

Magyar

Kémiai Folyóirat

Kémiai Közlemények

120. ÉVFOLYAM, 2014

2-3

A Magyar Kémikusok Egyesülete tudományos folyóirata
A Magyar Tudományos Akadémia Kémiai Osztályának közleményei
Magyar Kémiai Folyóirat 120. évfolyam, 2-3. szám 41-140. oldal, 2014

Útmutatás szerzőknek

A Magyar Kémiai Folyóirat fő feladata egyrészt a magyar kémiai szaknyelv folyamatos ápolása, s a kémiai tudomány fejlődéséhez, az aktuális tudományos újdonságokhoz alkalmazása, egyidejűleg a minél teljesebb körű szakmai információ-csere késedelem nélkül biztosítása, s az, hogy magas szakmai színvonalon tegye hozzáférhetővé az érdeklődők számára a hazai és külföldön élő magyar kémikusok kiemelkedő tudományos kutatási eredményeit, sikereit és mutassa be a kémiai tudományok világszerte bekövetkező fejlődését, változását, a kémia legfrissebb vívmányait, alkalmazásait, az érdeklődés gyújtópontjába kerülő területeit, másrészt, hogy segítséget nyújtson következő kémikus nemzedékeknek a kémiai tudomány anyanyelven való megismeréséhez, a kémiai ismeretek, fogalmak szakmailag helyes és pontos magyar nyelvű kifejezéseinek megtanulásához.

A Magyar Kémiai Folyóirat negyedévenként jelenik meg. Eredeti magyarnyelvű közleményeket – az alább megadott, szigorúan korlátozott terjedelemben, a nemzetközi tudományos folyóiratok átlagos színvonalát elérő munkák esetén – jelentet meg, előnybe részesítve fiatal kutatók első önálló közleményeit. Összefoglaló cikkeket közöl (felkérés alapján) hazai kiemelkedő teljesítményű kutatóműhelyek hosszabb idő alatt elért eredményeiről, hazai nemzetközi konferenciákról, a nemzetközi érdeklődés gyújtópontjába került kutatási területekről, bemutató a friss eredményeket, fejlődési irányokat, s ha van, a hazai hozzájárulást, külföldön élő, sikeres magyar származású vegyész-kutatók munkájáról, a szomszédos országokban, határainkon kívül működő magyar kémikusok közzétételre érdemes tudományos eredményeiről. Helyet kapnak a folyóiratban könyvismertetések, kémiai és rokontárgyú kiadványokról. Külön rovatként közli a korábban már a Magyar Kémiai Folyóirat-ba beolvasztott Kémiai Közlemények profiljából átvéve akadémiai székfoglalók, MTA doktora címért megvédett értekezések és PhD-dolgozatok összefoglalóit és akadémiai fórumokon elhangzott egyes előadások rövidített változatát. Idegen nyelven már közzétett cikkek másod-közlését a folyóirat nem vállalja. Terjedelem túllépést csak a szerkesztőbizottság hozzájárulásával, a többlet terjedeleme megváltása ellenében fogad el.

Az egyes közlemény-fajták térítésmentesen, szerkesztőbizottsági hozzájárulás nélkül kitölthető terjedelme (nyomtatott oldalak):

1. Összefoglaló közlemények a) jelentős, aktuális kutatási terület legújabb nemzetközi eredményeiről: max. 8 + 1 oldal angol nyelvű kivonat, b) kiemelkedő hazai kutatóhelyek újabb eredményeiről, ill. c) külföldön alkotó magyar származású kiemelkedő elismertségű kutatók munkásságáról: max. 6 + 1 oldal angol nyelvű kivonat.
2. Eredeti közlemények: új tudományos eredményeket bemutató, lektorált magyar nyelvű közlemények: max. 4 + 1 oldal angol nyelvű kivonat. Előnyt élveznek fiatal kutatók (pl. kiemelkedő PhD értekezések összefoglalója) és határon túli magyar kutatók munkái.
3. A "Kémiai Közlemények" rovatban a) Akadémiai székfoglaló előadások rövidítve és b) MTA Doktora védések anyagának összefoglalói: max. 4-4, továbbá c) a Szerk. Bizottság, vagy az MTA Kémiai Tud. Osztálya által kiválasztott és az Osztály szervezésében elhangzott előadás összefoglalója: max. 2 oldal + féloldalas angol nyelvű kivonat.
4. Könyvismertetés: max. fél oldal.

A megadott maximális terjedeleme túllépéséhez esetenként a Szerkesztő Bizottság – a költség-többlet szerző általi megtérítése ellenében – hozzájárulhat.

A kézirat elkészítését segítő mintafajlt, valamint a részletes formai követelményeket a folyóirat honlapján találja meg:

Magyar Kémiai Folyóirat
HUNGARIAN JOURNAL OF CHEMISTRY
és
MTA Kémiai Közlemények

A Magyar Kémikusok Egyesületének lapja

Megindította Than Károly 1895-ben

Főszerkesztő: Sohár Pál

A szerkesztőbizottság tagjai:

Baranyai András, Felinger Attila, Gelencsér András,
Keglevich György, Szilágyi László, Wölfling János

Szerkesztő: Huszthy Péter

E szám vendégszerkesztője: Wölfling János

Technikai szerkesztő: Nagy Tibor Zsigmond

TARTALOMJEGYZÉK

Főszerkesztői levél..... 43

Wölfling János: A Szegedi Tudományegyetem Kémia
Doktori Iskolája 44

KÖZLEMÉNYEK

Pataj Zoltán, Aranyi Anita, Ilisz István, Péter Antal: Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás
enantiomerválasztás: β -aminosavak viselkedése
antibiotikum szelektorokon..... 45

Jedlinszki Nikolett, Metzinger Anikó, Galbács Gábor: Az analitikai teljesítőképesség javítása
kísérleti és numerikus eljárásokkal a lézer indukált
plazma spektrometriában 50

Pópity-Tóth Éva, Schusztér Gábor, Horváth Dezső, Tóth Ágota: Háromdimenziós konvektív instabilitás
tanulmányozása a klorit-tetrathonát autokatalitikus
reakcióban..... 55

Aranyi Anita, Pataj Zoltán, Ilisz István, Péter Antal:
Aminonaftol enantiomerek nagyhatékonyságú
folyadékkromatográfiás vizsgálata: A hőmérséklet
hatása a királis elválasztásra 60

Endrődi Balázs, Kormányos Attila, Bencsik Gábor, Peintler-Kriván Emese, Janáky Csaba, Visy Csaba:
Polipirrol/magnetit kompozit vékonyrétegek
szintézise és elektrokatalitikus tulajdonságaik
jellemzése..... 67

CONTENTS

Letter of the editor-in-chief..... 43

János Wölfling: Chemistry Doctoral School of Szeged
University 44

PAPERS

Zoltán Pataj, Anita Aranyi, István Ilisz, Antal Péter:
Enantioseparation by high performance liquid
chromatography: β -amino acids on antibiotic selectors
..... 45

Nikolett Jedlinszki, Anikó Metzinger, Gábor Galbács:
Development of experimental and numerical methods
for the improvement of the analytical performance of
laser induced breakdown spectrometry..... 50

Éva Pópity-Tóth, Gábor Schusztér, Dezső Horváth, Ágota Tóth: Convective instability in the three-
dimensional chlorite-tetrathionate system 55

Anita Aranyi, Zoltán Pataj, István Ilisz, Antal Péter: Aminonaphthol enantioseparation by high
performance liquid chromatography: The effect of
temperature on chiral separation..... 60

Balázs Endrődi, Attila Kormányos, Gábor Bencsik, Emese Peintler-Kriván, Csaba Janáky, Csaba Visy: Preparation and characterization of magnetic
nanoparticle containing conducting polymer
nanocomposites..... 67

Sebők Dániel, Ábrahám Nóra, Dékány Imre:
Önrendeződéssel előállított ZnO és ZnO₂
vékonyrétegek szenzorikus alkalmazása..... 72

Szöllősi György: Királisan módosított fémfelülettel
katalizált aszimmetrikus kaszkád reakciók..... 77

Fejes Dóra, Réti Balázs, Németh Krisztián, Berki Péter, Németh Zoltán, Hernádi Klára: Többfalú szén
nanocsövek előállítása és széleskörű felhasználása az
Alkalmazott Nanocső Technológia kutatócsoportban
..... 83

Bata Péter, Notheisz Ferenc, Peter Kluson, Zsigmond Ágnes: Heterogenizált Fe(ftalocianin) katalizátor
előállítása és alkalmazása oxidációs és redukciós
reakciókban..... 89

Madácsi Ramóna, Gyuris Márió, Kanizsai Iván, Sipos Péter, Wölfling János, Puskás László G.: 4-Amino-
5,6,7-trifluor-ftalimidek előállítása, in vitro és in vivo
biológiai vizsgálata 95

Tóbiás Roland József, Gyevi-Nagy László, Tasi Gyula: A monomolekulás reakcióhálózatok általános
formálkinetikai modellezése 102

Sipiczki (Ádok) Mónika, Bugris Valéria, Mészáros Szilvia, Srankó Dávid Ferenc, Ferencz Zsolt, Szabados Márton, Kukovecz Ákos, Kónya Zoltán, Sipos Pál, Pálinkó István: Réteges kettős hidroxidok
– különleges, könnyen funkcionálizál-ható összetett
anyagok..... 106

Iványi Zoltán, Görbe Tamás, Szabó Nikolett, Kiss Anita, Wölfling János, Schneider Gyula:
17β-Pirazolil- és -pirazolinil-szteroidok szintézise
..... 116

Váradi Györgyi, Rákosi Kinga, Kele Zoltán, Batta Gyula, Tóth K. Gábor: Több diszulfidhíd kötést
tartalmazó peptidek szintézise 122

Dömötör Orsolya, Bali Krisztina, Hetényi Anasztázia, Enyedy Éva Anna: Rákellenes gallium(III)komplexek
oldategyensúlyi jellemzése és szérumfehérjékkel való
kölsönhatásuk vizsgálata..... 127

Sija Éva: β-amiloid aggregációt gátló kelátor
molekulák oldategyensúlya..... 132

Haspel Henrik, Kónya Zoltán, Kukovecz Ákos: Titanát
nanoszálak dielektromos folyamatainak azonosítása
..... 136

Dániel Sebők, Nóra Ábrahám, Imre Dékány: Sensorial
application of ZnO and ZnO₂ thin films prepared by
self-assembly techniques 72

György Szöllősi: Enantioselective cascade reactions
catalyzed by chirally modified metal surfaces..... 77

Dóra Fejes, Balázs Réti, Krisztián Németh, Péter Berki, Zoltán Németh, Klára Hernádi: Preparation
and application of multiwalled carbon nanotubes in
the research group Applied Nanotube Technology
..... 83

Péter Bata, Ferenc Notheisz, Peter Kluson, Ágnes Zsigmond: Preparation and application of
immobilized Iron(II) phthalocyanine in oxidation and
reduction reactions..... 89

Ramóna Madácsi, Márió Gyuris, Iván Kanizsai, Péter Sipos, János Wölfling, László G. Puskás:
Preparation and biological screening of 4-amino-
5,6,7-trifluorophthalimides in vitro and in vivo..... 95

Roland József Tóbiás, László Gyevi-Nagy, Gyula Tasi:
General formal kinetics modeling of monomolecular
reaction systems..... 102

Mónika Sipiczki (Ádok), Valéria Bugris, Szilvia Mészáros, Dávid Ferenc Srankó, Zsolt Ferencz, Márton Szabados, Ákos Kukovecz, Zoltán Kónya, Pál Sipos, István Pálinkó: Layered double hydroxides
– peculiar materials that can be functionalized easily
..... 106

Zoltán Iványi, Tamás Görbe, Nikolett Szabó, Anita Kiss, János Wölfling, Gyula Schneider: Synthesis of
17β-pyrazolyl and -pyrazolinyl steroids 116

Györgyi Váradi, Kinga Rákosi, Zoltán Kele, Gyula Batta, Gábor Tóth K.: Synthesis of multiple disulfide
bond containing peptides 122

Orsolya Dömötör, Krisztina Bali, Anasztázia Hetényi, Éva Anna Enyedy: Solution studies of antitumor
gallium(III) complexes and their interactions with
human serum proteins..... 127

Éva Sija: Solution equilibrium of metal chelators as
inhibitors of β-amyloid aggregation..... 132

Henrik Haspel, Zoltán Kónya, Ákos Kukovecz:
Identification of dielectric processes in titanate
nanowires 136

Az MTA „Lendület” programjáról és a pályázat kémikus nyerteseiről

„Kis jubileumához” érkezett a 2009-ben az MTA elnöke, Pálinkás József elindította, idén immár hatodik kiírását megelőző rendkívül sikeres pályázati program, amely a külföldön és idehaza sikeresen tevékenykedő, kiemelkedően tehetséges fiatal kutatók hazacsábítását, illetve itthon tartását tűzte ki céljául, annak érdekében, hogy kutatómunkájukat itthon folytassák és munkájukkal a magyarországi tudományos eredményeket gyarapítsák. A kitűzött cél elérésének érdekében a pályázatot elnyerők nemzetközi szinten is versenyképes anyagi támogatásban részesülnek és a befogadó intézmények optimális munkakörülményeket biztosítanak számukra, mind infrastrukturálisan, mind az ideális személyi feltételek, mind a dologi költségek fedezésének terén.

A Lendület program célja az akadémiai intézményekben és egyetemeken működő kutatócsoportok megerősítése, teljesítményének növelése, szakmai színvonalának emelése és a kutatások rugalmasabbá, a nemzetközi trendeket gyorsabban követővé, az eredményesség fokozása érdekében bátrabban megújulásra képesebbé tegye, a nemzetközileg kimagasló teljesítményekre képes legkiválóbb fiatal tehetségek külföldről hazatérésének, illetve itthon tartásának ösztönzésével. Az elnyert pályázatok eddigi, nemzetközi mércével is jelentős sikerei visszaigazolták a program elindításának jelentőségét. A program hozzájárul nemcsak a kiváló fiatal kutatók elvándorlásának visszaszorításához, de a színvonalas kutatói utánpótlás biztosításához is, javítja a tehetségek kibontakozásának esélyeit, és növeli az akadémiai kutatóintézet-hálózat, illetve az egyetemeken folyó kutatómunka versenyképességét.

Az eddigi hat kiírás közel 100 nyertese között 12 kémikus található, ami a tudományterületek közötti megoszlást tekintve átlag fölötti részesedést jelent. A sikeresen pályázók megérdemlik, hogy a Magyar Kémiai Folyóirat hasábjain felsoroljuk őket és nyertes pályázatuk címét:

Deák Andrea (MTA TTK, 2012): Arany tartalmú szupramolekulák létrehozása

Gyurcsányi Ervin Róbert (BME, 2013): Szintetikus receptorokon alapuló kémiai nanoszenzorok

Horváth Róbert (MTA TTK, 2012): Fejlett bioszenzorok kifejlesztése molekuláris mozgások monitorizálására

Janáky Csaba (SZTE, 2014): Hibrid szerves/szervetlen fotokatódok fejlesztése, tüzelőanyagok napenergia segítségével való előállítása céljából

Kállay Mihály (BME, 2013): Pontos kvantumkémia nagy molekulákra

Kele Péter (MTA TTK, 2013): Bioortogonális reagensek, kémiai hírvivők és fluoreszcens jelzővegyületek fejlesztése kémiai biológiai alkalmazásokhoz

Kukovecz Ákos (SZTE, 2012): Folyadék-szilárd határ jelenségek vizsgálata mezo- és makropórusos nanokompozitokban

Martinek Tamás (SZTE, 2011): Peptid foldamerek: szerkezet és alkalmazások

Novák Zoltán (2012, ELTE): Szén-hidrogén aktiváláson alapuló kémiai módszerek kifejlesztése

Reményi Attila (MTA TTK, 2013): Jelátviteli fehérje komplexek: szerkezet, funkció és hatóanyag tervezés

Soós Tibor (MTA, TTK, 2010): Katalízis frusztrált Lewis párokkal

Szilágyi Róbert Károly (PE, 2014): A szerkezetileg kontrollált anyagok mérnöki tervezhetősége

A Szegedi Tudományegyetem Kémia Doktori Iskolája

WÖLFLING János*

Szegedi Tudományegyetem, Szerves Kémiai Tanszék, Dóm tér 8., H-6720 Szeged, Magyarország

A Szegedi Tudományegyetemen folyó kémikusképzés gyökerei az egyetem jogelődjéig (az 1872-ben Kolozsvárott alapított Ferencz József Tudományegyetemig) nyúlnak vissza. Itt jelent meg hazánkban először magyar nyelvű kémiai folyóirat, melyet Fabinyi Rudolf szerkesztett „Vegytani lapok” címmel.¹

A Szegedi Tudományegyetem Természettudományi és Informatikai Karának Kémiai Tanszékcsoportján belül jelenleg négy tanszék működik; az Alkalmazott és Környezeti Kémiai, a Fizikai Kémiai és Anyagtudományi, a Szerves Kémiai, valamint a Szervetlen és Analitikai Kémiai. A Tanszékcsoport vezetője Kónya Zoltán egyetemi tanár. A Tanszékcsoport munkatársai végzik az egyetemi alapszakokhoz (kémia, anyagmérnök, molekuláris bionika, környezettan, környezetmérnök), illetve mesterképzésekhez (vegyész, kémiatanár, környezettudomány) kapcsolódó kémiaoktatást, részt vesznek továbbá a gyógyszerész-hallgatók képzésében is.²

A kémia számos területét érintő, nemzetközileg is elismert, magas szintű kutatómunka a tanszékeken, illetve a tanszékek között szerveződő kutatócsoportok keretében folyik. A doktori képzést két doktori iskola (a Kémia és a Környezettudományi) végzi. A Folyóirat jelen különszáma a Kémia Doktori Iskola keretében megvalósuló kutatómunka keresztmetszetét igyekszik bemutatni, a teljesség igénye nélkül. A Doktori Iskolát a 2001-ben történt akkreditációját követően Bartók Mihály, Dékány Imre akadémikusok, majd Erdőhelyi András professzor vezette, 2014-től pedig Kiss Tamás egyetemi tanár látja el ezt a tisztséget.³ A Doktori Iskolának az Általános Orvostudományi Kar Orvos Vegytani Intézetének munkatársai is aktív résztvevői. Ugyancsak a kezdetektől fogva szoros az együttműködés a Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi

Kutatóközpontjával és Szegedi Biológiai Központjával, amit 2007 óta együttműködési megállapodás is szentesít.

A doktori képzés az alábbi hét programban folyik:

1. Analitikai kémia (programvezető: Galbács Gábor)
2. Bioorganikus kémia (programvezető: Tóth Gábor)
3. Fizikai kémia (programvezető: Tóth Ágota)
4. Elméleti kémia (programvezető: Penke Botond)
5. Katalízis, felület, kolloid és anyagtudomány (programvezető: Dékány Imre)
6. Komplex vegyületek kémiája (programvezető: Kiss Tamás)
7. Szerves kémia (programvezető: Wölfling János)

A képzés volumenét az alábbi számadatok jellemzik:

Oktatók létszáma: 59
Témakiírók létszáma: 34
Témavezetők létszáma: 24
Jelenlegi hallgatók létszáma: 26
Törzstagok létszáma: 16
Emeritus törzstagok létszáma:
Az összes eddig felvett hallgatók létszáma: 162,
 közülük abszolutóriumot szerzett: 96,
 közülük sikeresen fokozatot szerzett 72.
Az eddig odaítélt fokozatok száma: 110.

Hivatkozások

1. 90 éves a szegedi természettudományos képzés, SZTE TTIK: Szeged, 2011.
2. A Szegedi Tudományegyetem Kémiai Tanszékcsoportjának honlapja: <http://www2.sci.u-szeged.hu/chem/index/index.php>
3. A Kémia Doktori Iskola honlapja: http://www2.sci.u-szeged.hu/chem/phd_chem/kemia.htm

* Tel: 62-5441099; fax: 62-544200; e-mail: wolfling@chem.u-szeged.hu

Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás enantiomerelválasztás: β -aminosavak viselkedése antibiotikum szelektorokon

PATAJ Zoltán^{a,*}, ARANYI Anita^a, ILISZ István^a és PÉTER Antal^a

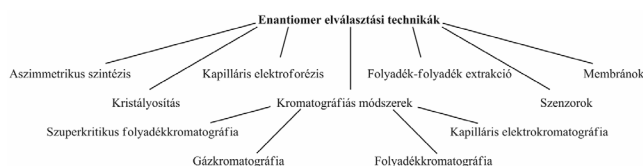
Szegedi Tudományegyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Dóm tér 7, 6720 Szeged, Magyarország

1. Bevezetés

Az élő szervezetekben a királis molekulák kiemelkedő jelentőséggel bírnak. A fehérjék, a fehérjéket alkotó aminosavak, a cukrok, az enzimek mind királis vegyületek. A pontos magyarázat még ma sem ismeretes, de e molekulák kép-tükörkép párosából az esetek döntő többségében csak az egyik forma fordul elő.

A királis vegyületek világában az enantiomerek biológiai hatása nagymértékben különbözhet egymástól, attól függetlenül, hogy fizikai-kémiai tulajdonságaikat tekintve azonosak, kivéve hogy a síkban poláris fény rezgési síkját milyen irányban forgatják.¹ Ez azzal magyarázható, hogy a királis molekulák a biológiai rendszerekben ugyancsak aszimmetrikus molekulák egy adott konfigurációjával találkoznak, melyek képesek megkülönböztetni az enantiomereket.

Királis molekulák előállításának gazdaságos útja lehet a közvetlen királis katalitikus vagy enzimátikus szintézis, illetve racém vegyületek szintézise és az azt követő valamilyen elválasztási technika alkalmazása. Mivel az aszimmetrikus szintézismódszerek is csak korlátozottan szolgáltatnak 100%-os enantiomer tisztaságot, így a kristályosítással történő rezolválás (diasztereomerpár képzés), a kromatográfiás módszerek, folyadék-folyadék extrakció, szenzorok és membránok felhasználása, desztilláció, stb. jöhet szóba a valóban enantiomertiszta vegyületek előállítására (1. ábra).



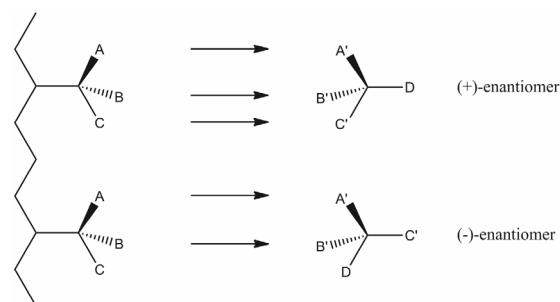
1. Ábra. Enantiomer elválasztási technikák.

Bármilyen úton is történik a királis molekula előállítása, elengedhetetlen a szintézist követő valamilyen elválasztási módszer alkalmazása a királis tisztaság ellenőrzésére. A leggyakrabban használt analitikai módszerek a kromatográfia családjából kerülnek ki, melyek közül is kiemelkedik a folyadékkromatográfiás eljárás.

2. Királis kromatográfia

Enantiomerpárok elválasztása a fent említett fizikai és kémiai tulajdonságbeli hasonlóságuk miatt csak olyan

sztereospecifikus kémiai kölcsönhatással lehetséges, amelynek során a sztereoizomerek eltérő módon reagálnak. Éppen ezért a kromatográfiás elválasztás alapja a diasztereomerpár-képzés a vizsgált vegyület és az állófázis vagy a mozgófázis királis komponense (anizotróp közeg) között. Királis állófázis alkalmazása esetén az elválasztás mértékét az enantiomerek állófázissal kialakított eltérő kölcsönhatása határozza meg (2. Ábra). Az enantiomer aktív centrumához kapcsolódó csoportok hárompontos kölcsönhatás (ezek lehetnek: szterikus gátlás, π - π -, dipól-dipól-, ionos kölcsönhatás, komplexképzés, stb.) kialakítására képesek, így a királis állófázist ennek megfelelően kell megválasztani.^{2,3}



2. Ábra. A hárompontos illeszkedés modellje.

A módszer nagy előnye, hogy nem igényel hosszadalmas és bonyolult minta előkészítést, valamint az analízis után a vegyületek eredeti formájukban állnak rendelkezésünkre. A királis oszlopok alkalmasak analitikai mérések kivitelezésére minőségi és mennyiségi meghatározás céljából, valamint fél-preparatív, illetve preparatív méretben enantiomerek tisztítására is.

3. Makrociklusos glikopeptid szelektorok

Az elmúlt évtizedben megnövekedett az érdeklődés a β -aminosavak iránt, melyek igen fontos közbenső termékei különféle gyógyászatban használatos termékeknek, valamint alkotórészei olyan természetben jelen lévő fontos vegyületeknek, mint például az alkaloidok, peptidok és β -laktám antibiotikumok. A β -aminosavakat a biológiai aktív peptidok szintézise során a szerkezet rögzítésére használják. Ezek a felhasználási módok megkövetelik a vegyületek enantiomer tisztaságát. Az irodalomban rendelkezésre álló eredmények alapján kijelenthető, hogy a különféle aminosavak királis elválasztásában

* Főszerző. Tel.: +36 (62) 34-3656; fax: +36 (62) 54-4340; e-mail: patajz@chem.u-szeged.hu

Makrociklusos antibiotikumok

Ansamicinek

- rifamicin

Glikopeptidek

- avoparcin
- teikoplanin
- teikoplanin aglikon
- risztocetin A
- vankomicin
-vankomicin aglikon

Polipeptidek

- tiosztrepton

Aminoglikozidok

- fradiomicin
- sztreptomycin
- kanamicin

3. Ábra. A makrociklusos antibiotikumok csoportosítása.

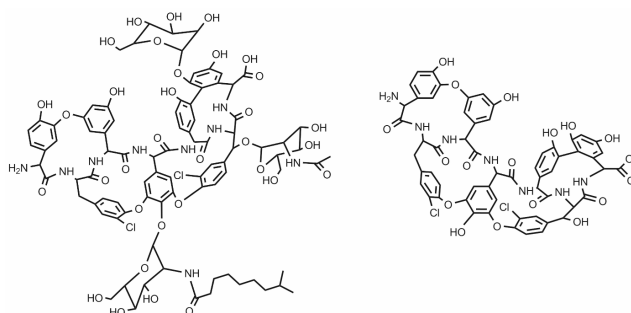
igen hatékonyak bizonyulnak a makrociklusos glikopeptid szelektorok.⁴⁻⁶

Armstrong és munkatársai alkalmazták először a makrociklusos antibiotikumok egyik családját, a makrociklusos glikopeptideket királis szelektorként.⁷ A ciklodextrinek és poliszacharidok mellett a királis kromatográfiában manapság a makrociklusos antibiotikum alapú állófázisok a legkeresettebbek, amit a megjelenő közlemények egyre növekvő száma is bizonyít.^{4-6,8-11}

A makrociklusos antibiotikumok családjába több száz vegyület tartozik, mely vegyületek szerkezetüket tekintve rendkívül széles skálán mozognak. A királis szelektorként is alkalmazható molekulák, a makrociklusos antibiotikumokon belül négy fő csoportba sorolhatók: ansamicinek, glikopeptidek, polipeptidek és aminoglikozidok (3. ábra). Sztereoszerektivitás szempontjából a leghatékonyabbnak a glikopeptidek (teikoplanin, teikoplanin aglikon, risztocetin A, vankomicin és vankomicin aglikon) bizonyultak, de figyelemre méltó eredményeket értek el tiosztrepton, rifamicin, fradiomicin, sztreptomycin, kanamicin és avoparcin királis szelektorként való alkalmazása során is.¹²

Egyedi szerkezetüknek és a funkciós csoportok széles tárházának köszönhetően a makromolekulák ionos, hidrogénhidás, hidrofób, dipól-dipól, diszperziós, szterikus, π - π , stb. kölcsönhatás kialakítására képesek.¹³ Hatékonyan használhatóak különböző kromatográfiai módokban, úgy mint normál és fordított fázisban (NPM és RPM), nemvízes poláris szerves oldószert tartalmazó rendszerben (MeOH, ACN) (POM), valamint savas, illetve bázisos karakterű módosított tartalmazó nemvízes poláris szerves fázisban (PIM), (MeOH/AcOH/TEA).¹⁴

A teikoplanin A₂-2 három szénhidrát csoporttal rendelkezik, melyekből kettő D-glükózamin, egy pedig D-mannóz (4. ábra). A teikoplanin legjellegzetesebb sajátága, hogy egy glükózamin magában foglal egy N-acilezett szénhidrogén láncot. Ennek köszönhető, hogy ez a szerkezet apolárisabb, mint a többi glikopeptid. A Chirobiotic TAG oszlop szelektora a teikoplanin aglikon, mely hét aromás gyűrűből áll, melyből kettőn klór szubsztituens található, négyen pedig fenolos hidroxilcsoport. A molekulán szintén megtalálható primer aminocsoport és hidroxilcsoportok valamint a szilikagél oldhatósága határozza meg azt a pH tartományt (tipikusan 3,5-8,0) ahol az ilyen szelektort tartalmazó kolonna használható.



4. Ábra. A teikoplanin és teikoplanin aglikon szerkezete.

A Chirobiotic T és T2 oszlop között a szelektor anyagát tekintve nincs különbség, mindkettőben a szilikagél hordozó teicoplaninnal A₂-2-vel borított. A különbség „csak” a borítottság mértékében, valamint a szilikagélhez való kötés módjában van. Irodalmi adatok alapján a T2 oszlop királis szelektivitása jobb az α -aminosavak elválasztásában, mint a Chirobiotic T oszlopé. A Ristocetin A a Chirobiotic R, míg a Vancomycin a Chirobiotic V királis oszlop szelektora.

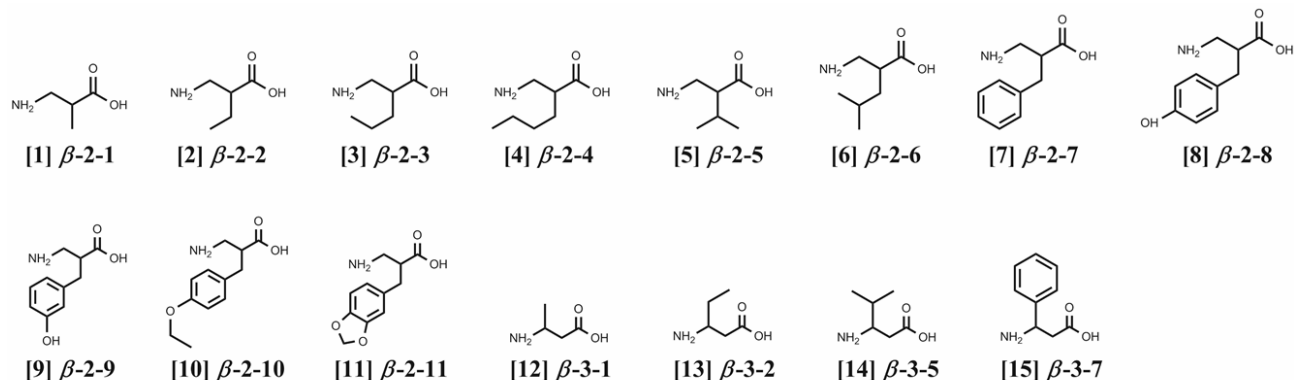
4. Eredmények

A királis elválasztásokhoz alkalmazott makrociklusos antibiotikum alapú királis állófázison az elválasztás alapja a molekula azon sajátága, hogy miként tud illeszkedni a királis szelektor kosarába. Ezt a folyamatot nagyban befolyásolja a két szelektor, a teikoplanin és a teikoplanin aglikon között fennálló lényeges különbség, nevezetesen a szénhidrátcsoportok jelenléte, illetve azok hiánya (4. ábra). Fontos eltérés még, hogy a teikoplaninon lévő glükózamin tartalmaz egy N-acilezett C9 szénhidrogén láncot, mely még inkább hidrofób jelleget kölcsönöz a szelektornak.

A vizsgált anyagok két csoportba oszthatók: megkülönböztetünk β -2- és β -3-aminosavakat. A β -2-aminosavak annyiban különböznek a β -3-aminosavaktól, hogy az előző vegyületcsoport esetén a karboxilcsoportot tartalmazó szénatomon található a molekula aszimmetria-centruma, míg az utóbbinál ez az aminocsoportot tartalmazó szénatomra igaz (5. ábra).

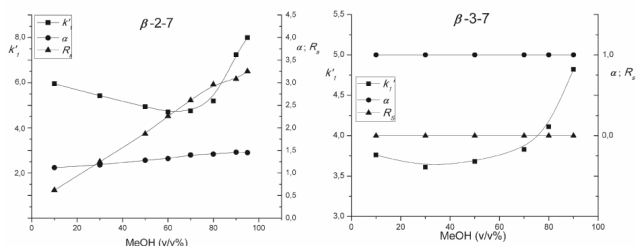
4.1. Eluensösszetétel-változás hatása az elválasztásra

Az aminosav enantiomerek elválasztásához fordított fázisú rendszert alkalmaztunk, mely mozgófázisként 0,1% trietilammóniumacetát puffer (TEAA, pH=4,1)/metanol



5. Ábra. Vizsgált anyagok szerkezeti képletei: [1] 3-amino-2-metilpropánsav; [2] 2-(aminometil)butánsav; [3] 2-(aminometil)pentánsav; [4] 2-(aminometil)hexánsav; [5] 2-(aminometil)-3-metilbutánsav; [6] 2-(aminometil)-4-metilpentánsav; [7] 2-(aminometil)-3-fenilpropánsav; [8] 2-(aminometil)-3-(4-hidroxifenil)propánsav; [9] 2-(aminometil)-3-(3-hidroxifenil)propánsav; [10] 2-(aminometil)-3-(4-etoxifenil)propánsav; [11] 2-(aminometil)-benzo(1,3)dioxolán-5-il propánsav [12] 3-amino-butánsav; [13] 3-amino-pentánsav; [14] 3-amino-4-metil-pentánsav; [15] 3-amino-3-fenil-propánsav.

(MeOH) különböző térfogatarányú elegyét tartalmazta. Modell vegyületként különböző helyzetekben lévő alifás, elágazó alifás és aromás oldalláncot, valamint egy oxocsoportot tartalmazó β -aminosavat választva (β -2-1, β -3-1, β -2-5, β -3-5, β -2-7, β -3-7 és a β -2-11) tanulmányoztuk az eluens MeOH tartalmának hatását a kromatográfiás viselkedésre Chirobiotic T, T2 és TAG kolonnákon. Hat különböző eluens összetételt alkalmaztunk minden vegyület esetében, TEAA (pH=4,1)/MeOH = 10/90 és 90/10 (v/v) összetétel tartományban.



6. Ábra. Kromatográfiás adatok, retenciós faktor (k'), szelektivitás (α) és a felbontás (R_s) értékeinek változása az eluens összetétellel; Kolonna, Chirobiotic TAG; mozgófázis, 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 205 nm; hőmérséklet, 25 °C.

Az alkil oldallánccal rendelkező β -2-1 és β -3-1 aminosav esetén a MeOH térfogatarányának növekedésével párhuzamosan nagymértékben növekedett a retenciós faktor (k'). Ennek magyarázata vélhetően a solvatációs viszonyokban rejlik, melyet újabban HILIC (hydrophilic interaction liquid chromatography) hatásként emleget az irodalom.¹⁵ A poláris jellegű, vízben jól oldódó aminosavak a szerves fázis (MeOH) térfogatarányának növelésével kisebb mértékben solvatálódtak, ezáltal jobban kötődnek az állófázishoz, növelve ezzel a visszatartást. Másként megfogalmazva, az apolárisabbá váló eluens egyre nagyobb teret enged a hidrofíli-hidrofíli kölcsönhatások kibontakozásának, megnövelve ezzel a molekula állófázison való tartózkodásának idejét (HILIC hatás).¹⁶ Ez a viselkedés mindhárom kolonnán megfigyelhető volt. Hasonló jelenségeket tapasztaltunk az elágazó és alifás oldallánccal rendelkező aminosavak esetén is.

Az aromás szubsztituenst tartalmazó aminosavak esetén (β -2-7, β -3-7 és β -2-11) a k' értékei minimum jellegű

görbét írtak le (6. ábra). A minimum pont utáni növekedés a k' értékekben a MeOH térfogatarányának növekedésével, hasonlóan magyarázható, mint az alifás oldalláncú vegyületeknél. A minimum pont előtti csökkenő szakasz abból adódik, hogy az aromás gyűrű az amúgy poláris aminosavaknak apoláris jelleget kölcsönöz. A vízben gazdagabb eluens esetén így előtérbe kerülnek a hidrofób-hidrofób kölcsönhatások, melyek nagyobb víztartalom mellett nagyobb visszatartást eredményeznek. A hidrofób-hidrofób, illetve a HILIC hatások eredője eredményezi a görbék változó alakját, ez befolyásolja a görbe minimumának helyét, valamint a minimumpont előtti csökkenés, illetve az utána lévő emelkedés meredekségét, amely mintaként és kolonnánként változó volt¹⁷.

A mintamolekulákon lévő funkciócsoportok helyzetétől, illetve az oldallánc helyzetétől és jellegétől függetlenül, a szelektivitás (α) és felbontás (R_s) értékek voltak, hogy a MeOH-ban gazdagabb mozgófázis esetén nagyobbak adódtak (kivételek képeznek azok a vegyületek, amelyek esetén nem sikerült az elválasztást megvalósítanunk).

4.2. Molekulaszerkezet és kromatográfiás viselkedés közti összefüggések

A β -aminosavak esetén ugyanazon a kolonnán a retenciós faktorok értéke csak kissé különbözött egymástól, függetlenül az oldallánc minőségétől. A jelenség lehetséges magyarázata az enantioszelektív felismerés olyan mechanizmusa, melyben az első enantiomer retenciós faktorának kialakításában a nemszelektív kölcsönhatások a jellemzőek, aminek köszönhetően a retenciós idők hasonlóak. A fennálló csekély eltérések a szerkezeti különbségekből adódhatnak.

A β -2-1, β -3-1, β -2-2 és β -3-2 vegyületek rendelkeznek a legrövidebb telített oldallánccal és ezek azok az aminosavak, melyek a legkisebb α és R_s értékeket adták, bár a k' viszonylag nagy. Ez valószínűleg abból adódik, hogy a rövid apoláris oldallánc és a királis szektoron található zseb hidrofób részei között kicsi a kölcsönhatás mértéke, ami csekély királis felismerést eredményez. A β -2-3 - β -2-6 és β -3-5 enantiomerek már hosszabb alkil láncsal rendelkeznek, mely egy kedvezőbb térállást és kölcsönhatást eredményezhet az aglikon kosarán belül. A β -2-5 és β -3-5 aminosav esetén azonban a csoport

szerkezete, nevezetesen egy elágazó 2-propil lánc, kedvezőtlenül hat a molekula-királis állófázis komplex kialakulására, ami kisebb retenciós faktort eredményez, ugyanakkor α (és R_s) kissé nagyobb volt összehasonlítva **β -2-1** és **β -3-1** adataival. Különösen szembetűnik az elágazó alkilcsoport negatív hatása, ha ezeket az adatokat összevetjük a **β -2-3**, **β -2-4** és a **β -2-6** aminosavakkal. Az analóg oldallánccal rendelkező **β -3-5** vegyület esetén az egyik legnagyobb szelektivitás és felbontás értéket tapasztaltuk a β -3-aminosavak közül, de ez az érték messze elmarad a β -2-aminosavaknál tapasztaltaktól. A viszonylagosan nagyobb szelektivitás és felbontás valószínűleg szterikus okokra vezethető vissza, a β -3-5 molekula elhelyezkedése kedvezőbb az aglikon kosarában, mint a **β -3-1** és **β -3-2** molekuláé. A **β -2-6** molekulában a **β -2-5** molekulához képest jelen lévő további CH_2 csoport már flexibilisebbé teszi a molekulát, és optimálisabb körülményeket teremt a másodikként eluálódó enantiomer illeszkedéshez az aglikon kosarában, ennek megfelelően mindhárom kolonnán nagyobb α és R_s értékeket kaptunk.

A **β -2-7** - **β -2-11** és **β -3-7** aminosavak mindegyike egy aromás gyűrűvel rendelkezik, mely nagymértékben változtatja meg a vegyületek fizikai és kémiai tulajdonságát. Fontos, hogy az elválasztásuk során már számolhatunk a poláris (π - π) kölcsönhatások jelenlétével is, mely a molekulák és a királis állófázis aromás gyűrűi közt jön létre. β -2-Alifás aminosavak esetén, a k'_i értékek ugyanazon kolonnán csak kismértékben térnek el egymástól, függetlenül az oldallánc szerkezetétől. Ez a megállapítás az aromás oldallánccal tartalmazó vegyületekre is igaz, ami azt jelenti, hogy az elsőként eluálódó enantiomerek visszatartásában fontos szerep jut a nemszelektív kötőerőknek. Az aromás β -2- és -3-aminosavakhoz tartozó α és R_s értékek rendre nagyobbak voltak, mint az alkil láncot tartalmazók esetén (**β -3-7** aminosavnál ez a szelektivitásra volt igaz). Ennek lehetséges magyarázata, hogy a másodikként eluálódó enantiomer visszatartásában nagyobb szerep jut a szelektív kölcsönhatásoknak, azon belül is nagy valószínűséggel a poláris kölcsönhatások járulnak hozzá leginkább a királis felismeréshez. A **β -2-8** és a **β -2-9** minta esetén a **β -2-7** molekulához képest kapott kisebb k'_i értékek valószínűleg az -OH csoport, mint szterikus gát jelenlétének voltak köszönhetőek a csoport helyzetétől függetlenül. Ugyanakkor a **β -2-10** és **β -2-11** aminosavak esetében kapott nagyobb retenciós faktorok az újabb -O- csoportok H-kötésben való részvételére vagy inkább szterikus okokra voltak visszavezethetőek, ugyanis a H-kötések kialakulásának a **β -2-8** és a **β -2-9** minták esetén is van esélye.

A β -2-aminosavak esetén az α és R_s értékek rendre nagyobbak adódtak, mint a β -3-aminosavaknál. Ha az oszlopok tekintetében vizsgáljuk a különböző aminosavakat, akkor a legnagyobb szelektivitást a β -2-aminosavak esetén a teikoplanin aglikont tartalmazó Chirobiotic TAG kolonnán tapasztaltuk (kivételez a **β -2-1** vegyület). Az α és R_s értékek a β -3-aminosavaknál az egyaránt teikoplanin A_2 -2 szelektort tartalmazó T vagy T_2 oszlopon voltak a legnagyobbak (kivételez a **β -3-1**, az adott eluens összetétel mellett ezen vegyület enantiomerjeinek elválasztása egyik oszlopon sem valósult meg).

A kromatográfiás paraméterek egy részét az 1. Táblázat tartalmazza.

1. Táblázat. Kromatográfiás adatok, retenciós faktor (k'_i), szelektivitás (α) és a felbontás (R_s) értékei β -aminosavak enantiomerjeinek közvetlen elválasztása során, makrociklusos glikopeptid állófázisokon, állandó mozgófázis összetétel mellett

Vegyület	Kolonna	k'_i	α	R_s
β-2-2	T	2,34	1,15	1,20
	T_2	2,00	1,08	0,70
	TAG	3,71	1,16	1,65
β-2-5	T	2,10	1,14	1,15
	T_2	1,63	1,15	0,95
	TAG	3,36	1,22	1,30
β-2-7	T	2,35	1,31	2,50
	T_2	1,95	1,21	1,65
	TAG	4,64	1,38	3,10
β-2-11	T	2,60	1,27	3,20
	T_2	2,53	1,24	1,95
	TAG	5,40	1,44	3,35
β-3-2	T	2,50	1,04	0,50
	T_2	1,44	1,06	0,60
	TAG	3,32	1,00	0,00
β-3-5	T	1,97	1,07	0,90
	T_2	1,29	1,06	0,55
	TAG	3,23	1,00	0,00
β-3-7	T	2,10	1,00	0,00
	T_2	1,66	1,07	0,45
	TAG	3,83	1,00	0,00

Kolonna, **T**, Chirobiotic T, **T_2** , Chirobiotic T_2 , **TAG**, Chirobiotic TAG; mozgófázis, 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH = 30/70 (v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 205 nm; hőmérséklet, 25 °C

Köszönetnyilvánítás

Pataj Zoltán publikációt megalapozó kutatása a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése országos program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

P.Z. köszönetét fejezi ki D.W. Armstrongnak (University of Texas at Arlington, USA) a királis kolonnáért.

Hivatkozások

- Hollósi, M. Barangolások a kiralitás birodalmában, Székfoglaló előadás, MTA, 2004.
- Easson, E. H.; Stedman, E. *Biochem. J.* **1933**, 27, 1257-1266.
- Ogston, A.G. *Nature* **1948**, 4129, 963-963.
- Ilisz, I.; Berkecz, R.; Péter, A. *J. Sep. Sci.* **2006**, 29, 1305-1321.
- Sharp, V.S.; Letts, M.N.; Risley, D.S.; Rose, J.P. *Chirality* **2004**, 16, 153-161.
- Sipos, L.; Ilisz, I.; Nonn, M.; Fülöp, F.; Pataj, Z.; Armstrong, D.W.; Péter, A. *J. Chromatogr. A* **2012**, 1232, 142-151.

7. Armstrong, D.W.; Tang, Y.; Chen, S.; Zhou, Y.; Bagwill, C.; Chen, J.-R. *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 1473-1484.
8. Ekborg-Ott, K.H.; Kullman, J.P.; Wang, X.; Gahm, K.; He, L.; Armstrong, D.W. *Chirality* **1998**, *10*, 627-660.
9. Fanali, F.; Crucianelli, M.; De Angelis, F.; Presutti, C.; *Electrophoresis* **2002**, *23*, 3035-3040.
10. Grobuschek, N.; Schmid, M.G.; Koidl, J.; Gübitz, G. *J. Sep. Sci.* **2002**, *25*, 1297-1302.
11. Péter, A.; Péter, M.; Ilisz, I.; Fülöp, F. *Biomed. Chromatogr.* **2005**, *19*, 459-465.
12. Xiao, T.L.; Armstrong, D.W. *Chiral separations. Methods and protocols*, Humana press: Totowa, **2004**.
13. Gasper, M.P.; Berthod, A.; Nair, U.B.; Armstrong, D.W. *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 2501-2514.
14. *Chirobiotic Handbook 4th Edition*, Advanced Separation Technologies Inc.: Whyppany, **2002**.
15. Guo, Y.; Gaiki, S. *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 5920-5938.
16. Pataj, Z.; Ilisz, I.; Aranyi, A.; Forró, E.; Fülöp, F.; Armstrong, D.W.; Péter, A. *Chromatographia* **2010**, *71*, 13-19.
17. Péter, A.; Árki, A.; Tourwe, D.; Forró, E.; Fülöp, F.; Armstrong, D.W. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1031*, 159-170.

Enantioseparation by high performance liquid chromatography: β -amino acids on antibiotic selectors

1. Introduction

The physical, biological and chemical properties determined by the symmetry and asymmetry play an especially important role in nature. Many of the organic materials from which different organisms are built up are chiral, so it is easy to understand that the presence of the enantiomers of a chiral compound in the organism can result in different interactions and therefore different effects and the pathways of the metabolism of the stereoisomers can also differ. Accordingly, a demand has arisen in pharmaceutical and other therapeutic fundamental research for the preparation of stereoisomers in enantiomerically pure form, and for the analytical qualification and quantification of pure chiral products.

Peptide-based receptor research involves the interactions of receptors with peptides with known conformations. Peptides with known conformations are prepared by the application of sterically hindered amino acids, which have special structures and special functional groups that can form conformational blocks in the structures of peptides. The preparation of peptides with known structures requires the application of enantiomerically pure amino acids.

Chirality is now a major theme in the design, discovery, development, launching and marketing of new drugs. The advances in stereoselective bioanalysis have led to a new awareness of the importance of stereoselective pharmacodynamics and pharmacokinetics, enabling differentiation of the relative contributions of enantiomers to the overall drug process.

There are several possibilities for the preparation of pure enantiomers, e.g. using enantioselective synthetic routes or the separation of enantiomers after the preparation of racemic mixtures (Figure 1). Such separations can be carried out by the traditional resolution processes or through the use of preparative chiral chromatographic techniques. The chromatographic processes play an important part not only in the production of the enantiomers, but also in the quality control of the chiral products. Chiral high-performance liquid chromatography (HPLC) is currently one of the most dynamically developing and most widely applied branches of the chiral analytics.

2. Results

Methods were developed for separation of the enantiomers of β -2- and β -3-amino acids by using chiral liquid chromatography.

The enantiomers of β -2- and β -3-amino acid analogs were separated on macrocyclic glycopeptide-based chiral stationary phases (CSPs), i.e. Chirobiotic T, T2, TAG and R. Separation could be accomplished in reversed-phase mode by using 0.1% Triethylammonium acetate (TEAA) buffer (pH 4.1)/MeOH mobile-phases with different compositions and at different temperatures.

For analytes with an alkyl side-chain, the retention factor progressively increased as the MeOH content of the mobile-phase was increased; this was probably due to the HILIC (hydrophilic interaction liquid chromatography) effect. Similar behavior was found for γ -amino acid analogs in literature¹⁶. For analytes with an aromatic side-chain, a U-shaped curve was observed (Figure 5). At higher water content, the retention factor increased again with increasing water content, which was probably due to enhanced hydrophobic interactions in the water-rich mobile-phase.

All α values increased slightly with increasing MeOH content for all investigated unnatural amino acids (higher increases were observed for β -2-amino acids with aromatic side-chains). The R_s values progressively increased with increasing MeOH content on all CSPs.

The values of the chromatographic parameters depended on the structures of the compounds and on the CSPs applied. The possible interactions depend strictly on how the enantiomers fit into the aglycone cavity, which is determined by the structures of the analytes and CSPs and also by the mobile-phase composition (Table 1).

The elution sequence was determined in some cases, and was found to be (R) < (S) for β -amino acids.

Az analitikai teljesítőképesség javítása kísérleti és numerikus eljárásokkal a lézer indukált plazma spektrometriában

JEDLINSZKI Nikoletta^a, METZINGER Anikó^b és GALBÁCS Gábor^{b,*}

^aSzegedi Tudományegyetem, Farmakognóziai Intézet, Eötvös u. 6., 6720 Szeged, Magyarország

^bSzegedi Tudományegyetem, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Dóm tér 7, 6720 Szeged, Magyarország

1. Bevezetés

A lézer indukált plazma spektroszkópia (laser induced breakdown spectroscopy, LIBS) jelenleg az analitikai atomspektrometria egyik legintenzívebben kutatott területe. Népszerűségét figyelemreméltó tulajdonságainak köszönheti: így például mindenféle halmazállapotú, alakú és méretű minta, különösebb mintaelőkészítés nélkül, akár távolról is vizsgálható. A LIBS spektrumok jellegzetesek, „ujjlenyomatszerűek”, ami a minták kvalitatív összetételének megállapítására vagy összehasonlítására is lehetőséget ad, ráadásul a mérések ma már kisméretű, hordozható műszerekkel is megvalósíthatók.^{1,2} A LIBS alkalmazások elterjedtsége miatt egyes szerzők a módszert már 2004-ben az analitikai atomspektrometria területének hagyományos „nagygyúú” (pl. az induktív csatolású plazma atomemissziós és tömegspektrometria, grafitkemencés atomabszorpciós spektrometria, stb.) között említik.³ Tény, hogy a LIBS spektrométerek ma már igen sokféle alkalmazásban, egyes esetekben valóban szélsőséges körülmények között és speciális mintatípusok esetében is jól teljesítenek; példaként említhetők olyan alkalmazások, mint a reaktorok forró zónáiban való mérések,⁴ taposóaknak típusának felismerése,⁵ festmények pigmentjeinek azonosítása,⁶ cseppkövek tanulmányozása,⁷ vagy akár marsi kőzetek helyszíni vizsgálata a Curiosity űrszonda által.⁸

Az elmúlt évtizedben lezajlott nagyívű fejlődés ellenére még továbbra is van számos olyan terület, mintatípus vagy analitikai feladat, amelyek kihívást jelentenek a LIBS mérések számára. Ezek közé tartozik az érzékenység és az ismételhetőség javítása is - jelenleg ugyanis ezen jellemzők tekintetében a LIBS spektrometria még kevésbé versenyképes a hagyományos atomspektrometriai módszerekhez viszonyítva. Megoldásként az irodalomban már többféle lehetőséget is felvetettek (pl. nemesgáz atmoszféra alkalmazása,⁹ a plazma kisegítő gerjesztése mikrohullámú sugárforrással,¹⁰ dúsítási eljárások bevetése,¹¹ stb.), azonban ezek többsége zárt mintakamrát és mintaelőkészítést igényel, vagyis éppen a LIBS legfőbb vonzerejét jelentő tulajdonságok elvesztése árán kínálnak teljesítményjavulást. Ezzel szemben mi annak az irányzatnak vagyunk a követői, amely felhasználóbarát tulajdonságok megőrzése mellett, kettő vagy több lézerimpulzus alkalmazásával és ehhez illeszkedő detektálással igyekszik a teljesítmény jellemzőket javítani. Egy másik, még kevésbé felderített alkalmazási terület a folyadékminták vizsgálata, ami több szempontból is kihívást jelent. Az ezzel kapcsolatos nehézségek közé tartozik a folyadék mozgékony szabad felszíne, valamint a fókuszálásnak a folyadékban gyakran előforduló buborékok és szuszpendált részecskék általi zavarása, illetve a hatékony fénygyűjtés akadályozása a folyadék okozta abszorpció és

fénytörés miatt. Mindezekben túl a folyadékok nagyobb sűrűsége és hővezetőképessége miatt a folyadékok alatt keltett plazma lényegesen alacsonyabb csúcshőmérsékletű és jelentősen rövidebb élettartamú, mint a levegőn keltett plazmák, ami miatt a mintakomponensek gerjesztése is rosszabb hatékonyságú.¹²

Jelen munkánk során a célkitűzésünk a LIBS spektrometria analitikai teljesítőképességének felmérése és fejlesztése volt a fent említett területeken, elsősorban több, kolináris lézerimpulzus alkalmazásával, a folyadékminták analízisére, valamint minták diszkriminációjára szolgáló módszerek kidolgozása kapcsán.

2. Eredmények és értékelésük

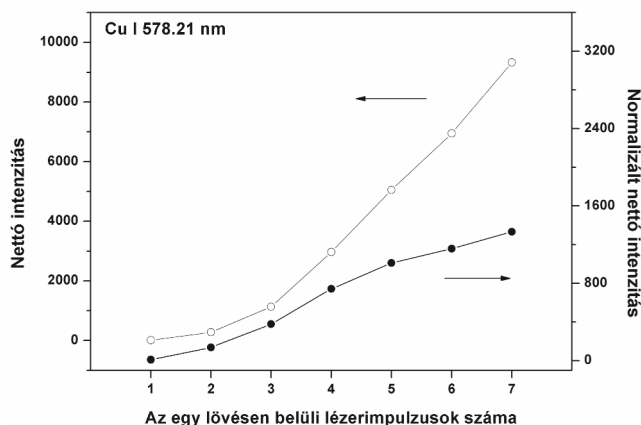
2.1. Többimpulzusos lézer indukált plazma spektrometria

A kísérleti részben ismertetett, időben és térben integráló elvű többimpulzusos LIBS (multi-pulse LIBS, MP-LIBS) kísérleti elrendezésünkben részletesen megvizsgáltuk a többszörös lézerimpulzusokkal, különböző szilárd mintákon keltett plazmák analitikai teljesítőképességét. A vizsgálatok során 11 elem (Al, Au, C, Cu, Cr, Fe, Mg, Mn, Si, Sn, Zn) több mint 20 atom- és ionvonalának az intenzitását tanulmányoztuk.

A nettó és az impulzusszámmal (energiával) normalizált nettó jelintenzitás változását vizsgáltuk az egy lövésen belüli impulzusszám (max. 7) függvényében fém, polimer és grafitmintákon. Az atomvonalak esetében egyértelműen megállapítottuk, hogy mind a nettó, mind az energiával normalizált nettó intenzitás növekszik a lövésenkénti impulzusszám növelésével és ez a növekedés nettó intenzitásoknál gyorsabb a lineárisnál (az 1. ábra egy Cu atomvonalra vonatkozó megfigyeléseinket illusztrálja). Egyes vonalak esetén az érzékenység javulása a százszoros értéket is eléri. A normalizált görbék növekedése azt mutatja, hogy többimpulzusos esetben minden egyes impulzus által előidézett nettó jel nagyobb az előző impulzustól származó jelnél. Ez arra utal, hogy a lézerimpulzusok hatása nem független egymástól. Az ionvonalak esetében eltérő viselkedést tapasztaltunk. Egyes vonalak (pl. a Mg (II) 448,1 nm és a Si (II) 412,8 nm) hasonlóan viselkedtek, mint az atomvonalak, vagyis erőteljes növekedés figyelhető meg mind a nettó, mind a normalizált nettó intenzitásokban az impulzusszám függvényében. Más ionvonalaknál (pl. Au (II) 312,7 nm és Al (II) 422,7 nm) a nettó intenzitás szintén monoton nő az impulzusszám függvényében, a normalizált

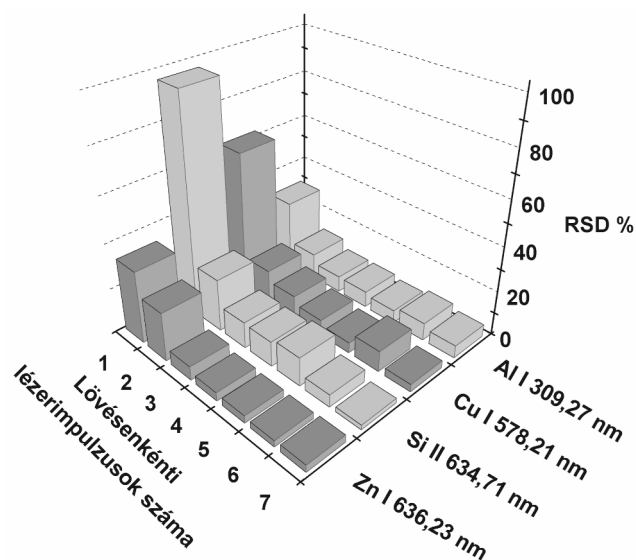
* Főszerző. Tel.: 62/544013 ; fax: 62/544340 ; e-mail: galbx@chem.u-szeged.hu

intenzitásgörbék azonban gyakorlatilag nem mutatnak növekedést az impulzusszám növelésével. Ezek szerint ezeknél a magas gerjesztési energiájú vonalaknál minden egyes lézerpulzus hasonló vagy csak kismértékben növekvő jelintenzitást produkál.¹³



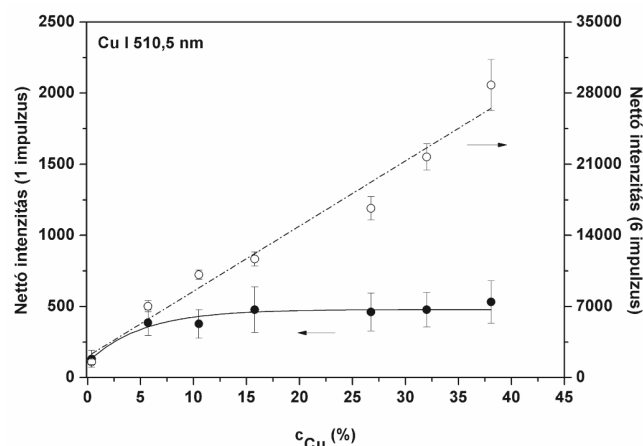
1. Ábra. A Cu (I) 578,21 nm vonalán mért nettó (O) és normalizált nettó (●) intenzitás változása az egy lövésen belüli lézerpulzusok számának függvényében.

A kvantitatív analitikai mérések szempontjából nagy jelentőséggel bíró teljesítményjellemző a mérések ismételhetősége. A LIBS módszert elsősorban szilárdmintás mérésekre alkalmazzák és mikroanalitikai jellegéből adódóan ismételhetősége nem kimagasló. Az egyimpulzusos LIBS (single-pulse LIBS, SP-LIBS) esetében jellemző szórás kis ismétlésszám (10-50) esetében, a minta homogenitásának függvényében 10-20% körül van. Ez az érték javítható nagyszámú mérés (500-2500) elvégzésével vagy valamilyen jelnormalizációs eljárás alkalmazásával. Idő- és térbeli integrációval működő MP-LIBS rendszerünkben megfigyeltük, hogy az ismételhetőség nagymértékben javul, ha növeljük az egy lövésen belüli lézerpulzusok számát. Amint az néhány fém emissziós vonalai esetében a 2. ábrán is látható, a jel szórása határozottan csökkenő trendet mutat az impulzusszám növekedésével és fokozatosan 5-10% közötti értéket ér el.



2. Ábra. A relatív standard deviáció (ismételhetőség) értékei néhány spektrumvonalra az impulzusszám függvényében.

Fontos megjegyezni, hogy ezek az értékek kis számú ismételt lövésből származnak és a mérési eredmények értékelése során semmilyen jelnormalizációs eljárást nem alkalmaztunk. Az elért szórásadatok azonban így is összemérhető nagyságúak más kutatócsoportok DP-LIBS módszerrel, nagyszámú ismétléssel kapott eredményeivel, sőt azoknál több esetben kedvezőbbnek is bizonyultak.^{14,15}



3. Ábra. A réz egyik atomvonalán egy (●) és hat impulzussal (O) felvett analitikai mérőgörbék.

Megvizsgáltuk az analitikai mérőgörbék alakjának változását is az impulzusszám függvényében. Eredményeink azt mutatják, hogy a hat impulzussal nyert mérőgörbék dinamikus tartománya jóval szélesebb, mint az SP-LIBS görbéké, amelyeknél a lineáris tartomány felső szélé az önabszorpció miatt jellemzően mindössze néhány százalék koncentrációig terjed.¹⁶ A hatimpulzusos esetben a kalibrációs görbe néhány tíz százalékig (esetenként közel 100 tömeg%-ig) jó közelítéssel lineáris. A 3. ábra ezt a javulást egy réz atomvonal esetére vonatkozóan illusztrálja.

2.2. Mintaelőkészítési módszerek folyadékminták vizsgálatára

Számos nagy teljesítőképességű atomspektrometriai módszer áll rendelkezésre az analitikában folyadékminták elemzésére. Egyes területeken mégis jelentős előnyökkel járna, ha olyan sokoldalú, könnyen kezelhető, terepen és akár távolról is kivitelezhető módszert, mint a LIBS spektrometriát lehetne a mérések elvégzésére alkalmazni.¹⁷ Ilyen terület például az olvadékok mérése a fémiparban, az erőművek hőcserélő közegében korróziós vizsgálatok, hidrotermális források, pneumatikus közegek, víz alatti régészeti műtárgyak, stb. mérése. Mikrofluidikai csatornák belsejében való méréssel veszélyes (pl. sugárzó vagy biológiai veszélyt jelentő) folyadékminták is mérhetővé válnának.

Módszerfejlesztés céljára számos kísérletet végeztünk folyadékminták előkészítésére alkalmas technikákkal. A megvizsgált technikák részben folyadék-szilárd konverzió, részben közvetlen mérésen alapultak. A folyadék-szilárd konverziós technikák közül a szűrőpapírra cseppentés és rászárítás, az üveg tárgylemezre vagy fémlemezre való cseppentés és rászárítás, a szuszpendált részecskékkel való adszorpciót követő bepárlás és tablettázás technikáit teszteltük. A közvetlen méréseket

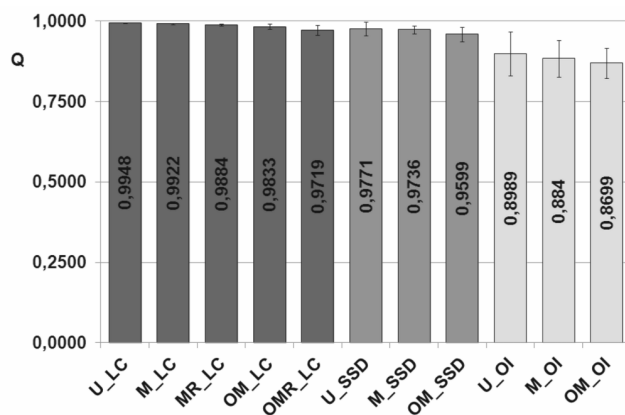
műanyag mikroküvetékben, üveg tárgylemezek közé zárt folyadékrétegekkel és mikrofluidikai csatornában folytattuk. A vizsgált módszerek mindegyike esetében standard oldatok (Cu, Na, Zn, Ba, Al, Fe, K) segítségével optimaltunk a releváns kísérleti paramétereket (pl. lézer impulzusenergia, lézerimpulzusok késleltetési ideje, detektálás integrációs ideje, a lövésszám, mintamennyiség, illetve üveg hordozó esetében szilanizált vagy nem szilanizált felület). Megállapítottuk, hogy optimális kísérleti körülmények esetén a legtöbb módszerrel elérhetőek a ppm szintű kimutatási határok.¹⁸

A legkevésbé használható módszernek a szűrőpapírra cseppentés és rászárítás módszere bizonyult, elsősorban azért, mert a kapillaritás miatt a mintaoldat a papíron szétfut és komponensei kismértékben el is válnak ("kávéfolt effektus"), ami miatt a mérések ismételhetősége és érzékenysége igen ingadozó. A vizsgált módszerek közül a legpraktikusabbnak a tárgylemezre szárítás módszerét találtuk és a kimutatási határok is ennél voltak a legalacsonyabbak.¹⁸ Jelenleg polidimetilsziloxánban (PDMS) kialakított mikrofluidikai csatornákkal kísérletezünk.

2.3. Minták megkülönböztetése

A hosszú ideig forrasztási alapanyagként használt ólom-ón ötvözetek 37-40 tömeg% ólomtartalommal rendelkeznek. Ezt az összetételt az elektromos ipar előnyben részesítette a jó mechanikai tulajdonságainak (húzó-nyíró szilárdság), az elektromos jellemzőinek és az alacsony olvadáspontjának (180-190°C) köszönhetően. Ezen forrasztófém-ötvözetek összetételének atomspektrometriai vizsgálata több célt is szolgálhat; ezek közé tartozik az újrafeldolgozás előtti szortírozás, az alapanyag, származási hely megállapítása a nyomszennyezők jellegzetes mintázata alapján, ami a bűnüldözésben juthat szerephez (pl. robbantások vagy tüzesetek helyszínén talált elektronikai panelek vizsgálata, elektronikai eszközök eredetiségének vizsgálata, stb.).¹⁹ A forrasztófém ötvözetek diszkriminációja akkor jelent komolyabb spektrometriai kihívást, ha az ötvözetek csak nyomszennyezőik összetételében különböznek. Éppen ezért olyan ötvözetek megkülönböztetésére (diszkriminációjára) alkalmas numerikus módszerek fejlesztésével is foglalkozunk, amely ötvözetek főkomponens-összetétele megegyezik. A diszkriminációhoz az ötvözetek LIBS spektrumát és három, könnyen kiszámítható értékű összehasonlító függvényt alkalmaztunk. A függvények a lineáris korreláció (LC), az eltérés négyzetösszeg (SSD) és az átfedési integrál (OI) függvények voltak.²⁰ A minták öt ismétléssel felvett, nem háttérkorrigált UV és Vis LIBS spektrumainak összehasonlítására a három kiértékelő függvényt spektrális maszkolási eljárásokkal (*U*: maszkolás nélkül, *M*: a főkomponensek spektrumvonalainak környezetét kihagyó maszkolással, *MR*: maszkolt és hosszúságában redukált spektrumok, *OM*: csak a fő szennyezők spektrumvonalainak környezetét meghagyó optimalizált maszkolás, *OMR*: optimalizált és hosszúságában redukált maszkolás) kombinálva összesen 11 kiértékelési eljárást dolgoztunk ki. A kiértékelések után kapott eredményeket oszlopdiagramon ábrázoltuk, melyeken feltüntettük a hibásávokat is. Az így kapott eredmények az OI módszer maszkolás nélkül vagy bármilyen maszkolás mellett, mind a két spektrum-tartományban megbízhatóan képes megkülönböztetni a két

ötvözetet. A spektrális maszkolás érdemben nem javította a teljesítményt. Az SSD függvény alkalmazása is sikeresnek mondható, csak az LC módszer volt sikertelen. Az UV és a Vis spektrumtartomány alkalmazhatósága között nem találtunk érdemi különbséget.²⁰

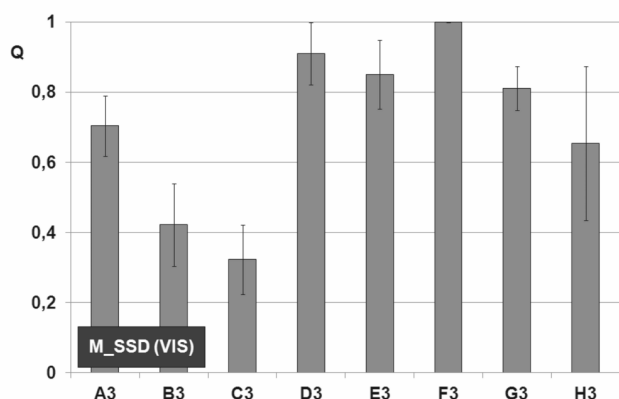


4. Ábra. Két, főkomponens összetételben egyező forrasztófém ötvözet LIBS spektrumain alapuló diszkriminációjának eredményei a Vis tartományban.

A papírok, valamint a papírokra különböző nyomtatókkal készített nyomatminták diszkriminációja is gyakorlati jelentőséggel bíró spektroanalitikai feladat.²¹ A papírok és tinták vizsgálatára alkalmazott módszerek általában kromatográfiai vagy spektroszkópiai jellegűek, azonban az utóbbi időben egyre inkább előtérbe kerülnek az in-situ és roncsolásmentes spektroszkópiai módszerek, mint például a Raman mikroszkópia. A feladat LIBS spektrumok alapján történő megoldására mi is kísérleteket folytattunk.

A papírok és nyomatok esetében is ugyanazon elv alapján kíséreltük meg a diszkriminációt, mint a forrasztófémek esetében, azonban itt nem ismeretes az elemösszetétel. Így ebben az esetben kevesebb volt a módszerek kombinációs lehetőségeinek száma, azonban nagyobb mintamátrixszal dolgoztunk (6 különböző nyomtató: *A-C* fekete lézernyomtatók, *D-F* fekete tintasugaras nyomtatók, *G* színes lézernyomtató, *H* színes tintasugaras nyomtató; 6 különböző papír). Az eredmények azt mutatták, hogy a lézernyomtatók nyomatai minden függvénnyel, de különösen az SSD függvénnyel általában jól elkülöníthetők egymástól és a tintasugaras nyomtatóktól is.²² Az LC függvény minden esetben jobb ismételhetőséget produkált, mint a többi függvény. Az UV tartományban a diszkrimináció minden függvénnyel jobban működött. A tintasugaras nyomatok általában igen rosszul voltak megkülönböztethetők egymástól, aminek elsődleges oka az lehet, hogy ennél a nyomtatási eljárásnál a festékanyag beszívárog a papírba, szemben a lézer nyomtatással, amikor egy szilárd toner szemcséből álló réteg rögzül a papír felületén. Ennek következtében a tintasugaras nyomatok LIBS spektrumai nemcsak a festékanyagra, hanem a papírra jellemző vonalakat is tartalmazni fogják - az utóbbi vonalak pedig a papírokra vonatkozó fenti tapasztalatok alapján nem segítik a diszkriminációt. Az egyik lézernyomtató nyomatai különültek el legjobban a többitől, amit különösen az LC függvénnyel való összehasonlítás emelt ki. A tonerek gyártóinak üzleti megfontolásból kódosító MSDS (material safety data sheet) adatlapjai tanulmányozása alapján ennek a

jelenségnek kémiai oka van; ez a gyártó Fe_2O_3 alapú fekete toner szemcséket alkalmaz a többi gyártó szén (korom) alapú szemcséivel szemben. Ez azonban közvetetten azt is jelzi, hogy az elemi összetétel egyszerű ellenőrzése nem adhat egyértelmű azonosítást, nem csak azért, mert ezek szerint ez a két anyag funkcionálisan egyaránt alkalmas tonerkészítésre, hanem azért is, mert szennyezősként mind Fe, mind C előfordul(hat) a tonerek anyagában. Ezen okok miatt részletes statisztikai (numerikus, kemometriai) kiértékelésre van szükség.



5. Ábra. Jellegzetes eredmények a nyomatminták LIBS diszkriminációjára vonatkozó kísérletből.

A papír és nyomatminták LIBS diszkriminációjával kapcsolatos eredmények összefoglalásaként megállapítható, hogy ez a spektroanalitikai feladat meglehetősen nehéz, és nem minden esetben végezhető el. Segítséget jelenthet a mintáról más spektroszkópiai módszerekkel kiegészítő információk gyűjtése; egy ígéretes kombinációnak tűnik a LIBS és Raman mikroszkópiás módszerek együttes alkalmazása. Jelenleg kutatásaink a területen további fejlett statisztikai módszerek kipróbálásával folytatódnak.

3. Kísérleti rész

A kísérletek során alkalmazott laboratóriumi MP-LIBS kísérleti rendszer egy metallurgiás mikroszkóp köré épült (SP80, Brunel), amely lehetővé teszi a minta tárgyasztalon való X-Y-Z irányú manuális mozgását is. A lézer fényforrás egy passzív Q-kapcsolós, 1 Hz ismétlési frekvenciájú, villanólámpás pumpálású, 1055 nm-en emittáló Nd:GGG lézer (MP/G-Q-005, Technoorg-Linda), amely impulzusainak időbeli hossza kb. 10 ns, száma 1 és 11 között szabályozható. Az impulzusok energiája 18 mJ. Az impulzusszám növelésével az impulzusok közötti késleltetési idő (25-40 μs) kismértékben csökken. A lézer fényét egy dikroikus nyalábosztó (SWP-45-RU1064-TU400-750-RW, CVI Technical Optics) irányítja a mikroszkóp objektívra (4x, fókusz távolság: 22 mm), amely a minta felületére annak normális irányából fókuszálja a nyalábot. A reprodukálható lencse-minta távolság és az optimális fénygyűjtés beállítása érdekében egy HeNe gázlézert (Typ 1508P-0, Uniphase) használtunk. A mikroplazma emisszióját egy száloptikás, 2048 pixeles CCD spektrométer figyelte meg (AvaSpec 2048FT, Avantes) két kvarc gyűjtőlencse és 200 μm átmérőjű, UV-stabilizált, ömlesztett szilika optikai szálak segítségével. A gyűjtőlencsék 45° -os szöget zárnak be a mintafelület normálisával. A CCD spektrométert egy

jelerősített gyors Si fotodióda (DET36A, Thorlabs) jele indítja. A spektrális adatgyűjtés késleltetési idejét egy impulzusgenerátor (TGP-110, Thurlby Thandar Instruments) segítségével szabályoztuk a 0-3 μs tartományban. A használt integrációs idő 2 ms volt. Ez a rendszer időben és térben integrált adatgyűjtést tesz lehetővé mind az UV (198-318 nm), mind a Vis-NIR (345-888 nm) tartományban.

A munka során felhasznált anyagok és vegyszerek analitikai tisztaságúak voltak. Az ötvözet- és papírmintákat kereskedelmi forgalomban elterjedt anyagok közül választottuk ki. Az oldatokat 1000 mg/L koncentrációjú törzsoldatok (Merck) ioncserélt vízzel (Millipore MilliQ) való hígításával állítottuk elő.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönik a TÁMOP No. 4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047 program anyagi támogatását.

Hivatkozások

1. Cremers, L. J.; Radziemski, D. A. *Handbook of laserinduced breakdown spectroscopy*, John Wiley and Sons: New York, **2006**.
2. Miziolek, A. W.; Palleschi, V.; Schechter, I. (eds.) *Laserinduced breakdown spectroscopy: fundamentals and applications*, Cambridge University Press: Cambridge, **2006**.
3. Winefordner, J. D.; Gornushkin, I. B.; Correll, T.; Gibb, E.; Smith, B. W.; Omenetto, N. *J. Anal. At. Spectrom.* **2004**, *19*, 1061-1083.
4. Whitehouse, A. I.; Young, J.; Botheroyd, I. M.; Lawson, S.; Evans, C. P.; Wright, J. *Spectrochim. Acta Part B* **2001**, *56*, 821-830.
5. Harmon, R. S.; DeLucia, F. C.; LaPointe, A.; Winkel, R. J.; Miziolek, A. W. *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *385*, 1140-1148.
6. Melessanaki, K.; Papadakis, V.; Balas, C.; Anglos, D. *Spectrochim. Acta Part B* **2001**, *56*, 2337-2346.
7. Galbács, G.; Kevei-Bárany, I.; Szőke, E.; Jedlinszki, N.; Gornushkin, I. B.; Galbács, M. Z. *Microchem. J.* **2011**, *99*, 406-414.
8. Lanza, N. L.; Wiens, R. C.; Clegg, S. M.; Ollila, A. M.; Humphries, S. D.; Newsom, H. E.; Barefield, J. E. *Appl. Opt.* **2010**, *49*, C211-C217.
9. Son, J. G.; Choi, S.-C.; Oh, M.-K.; Kang, H.; Suk, H.; Lee, Y. *Appl. Spec.* **2010**, *64*, 1289-1297.
10. Liu, Y.; Baudet, M.; Richardson, M. *J. Anal. At. Spectrom.* **2010**, *25*, 1316-1323.
11. Fang, X.; Ahmad, S. R. *Appl. Phys. B* **2012**, *106*, 453-456.
12. Rai, V. N.; Yueh, F. Y.; Singh, J. P. In *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*; Singh, J. P.; Thakur, S. N., Ed.; Elsevier: Oxford, **2007**; pp. 223-252.
13. Jedlinszki, N.; Galbács, G. *Microchem. J.* **2011**, *97*, 255-263.
14. Sturm, V.; Peter, L.; Noll, R. *Appl. Spec.* **2000**, *54*, 1275-1278.
15. St-Onge, L.; Sabsabi, M.; Cielo, P. *Spectrochim. Acta Part B* **1998**, *53*, 407-415.
16. Sabsabi, M.; Cielo, P. *Appl. Spec.* **1995**, *49*, 499-507.
17. Diaz Pace, D. M.; D'Angelo, C. A.; Bertuccelli, D.; Bertuccelli, G. *Spectrochim. Acta Part B* **2006**, *61*, 929-933.
18. Metzinger, A.; Kadenkin, A.; Galbács, G.; Gornushkin, I.; Gáspár, A. *55. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés*, **2012**, p4.
19. Suzuki, Y.; Kasamatsu, M.; Suzuki, S.; Marumo, Y. *Anal. Sci.* **2001**, *17*, 845-846.
20. Galbács, G.; Jedlinszki, N.; Metzinger, A. *Microchem. J.* **2013**, *107*, 17-24.

21. Hoehse, M.; Paul, A.; Gornushkin, I.; Panne, U. *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *402*, 1443–1450.
22. Galbács, G.; Jedlinszki, N.; Metzinger, A.; Fintor, K. *14th Hungarian-Italian Symposium on Spectrochemistry*, **2011**, P13.

Development of experimental and numerical methods for the improvement of the analytical performance of laser induced breakdown spectrometry

Laser induced breakdown spectrometry (LIBS) is one of the most actively studied method in the field of analytical atomic spectrometry. Its popularity is due to the unique set of analytical properties: it is a virtually non destructive method by which samples in any physical shape or phase can be potentially analyzed without any sample preparation, even also remotely. LIBS spectra are highly characteristics (fingerprint-like), which also facilitates the discrimination and qualitative identification of samples. Technical developments of recent years even made suitcase-sized portable LIBS instruments available for field use.

In spite of the great progress in the area, there is still place for further developments. For example, the two analytical properties of LIBS that are still not in par with that of many conventional atomic spectrometers are sensitivity and repeatability. Although there are suggestions in the literature on how to use special accessories to enhance the LIBS signal, these technical approaches all cause significant complications in sample handling and limit the flexibility of LIBS, hence are not optimal. Another, challenging but promising potential application field yet to be explored is the LIBS analysis of liquid samples, especially small volume (e.g. μL) samples.

In our present paper we give an overview of some numerical and experimental methods, developed in our research group in the past few years, that enhance the analytical performance of laser induced breakdown spectroscopy (single-pulse LIBS, SP-LIBS). One of the novel experimental methodologies we propose is the use of multiple co-linear laser pulses closely spaced in time (up to six impulses with μs -range interpulse delays) for plasma generation and the use of a time- and space integrated signal detection scheme (multi-pulse LIBS, MP-LIBS). The optical setup used in the experiments was built around a flash-lamp pumped, passively Q-switched Nd: GGG solidstate laser that allowed a control of the number of the released 1055 nm, 10 ns duration laser pulses via the setting of the flashlamp voltage. An optical microscope was used for laser beam focusing and sample micropositioning. The plasma emission was recorded using a fiber-optic CCD spectrometer allowing for the use of ns-range gate delays and ms-range gate widths.

With the help of the MP-LIBS methodology, significantly enhanced sensitivity (up to over a hundred times over SP-LIBS) was achieved, especially when spectral lines of neutral atoms were used. A different behaviour was observed for ionic spectral lines; some of

these lines showed a behaviour analogous to that of atomic lines, that is not only the net signal, but also the net signal normalized by the number of pulses delivered in a laser pulse sequence increased with the number of pulses. However some other ionic lines (e.g. Au II 312.7 nm or Al II 422.7 nm) behaved differently: while the net signal still steadily increased with the number of pulses in the sequence, but the normalized signal was found to be more or less constant. These observations suggest that high excitation potential spectral lines only experience re-excitation (re-kindling) for a short time following each laser pulse, whereas atomic lines (generally characterized by a low excitation potential) experience conditions that significantly extend the duration of their emission. An improved signal repeatability (down to 5 RSD% based on five repeated laser shots) was also observed for most spectral lines. Our results also demonstrated that an extended linear dynamic range (up to several tens of w% analyte concentration) can be achieved with the multi-pulse methodology. As illustration, we present a comparison of six-pulse and single-pulse calibration curves for the Cu I 810.5 nm line. We conclusively investigated the above effects in several solid sample types and for over 20 spectral lines of 11 elements (Al, Au, C, Cu, Cr, Fe, Mg, Mn, Si, Sn, Zn); our present paper highlights some of our results in this area.

Further experiments described here targeted the tackling of the problem of sample presentation of liquid samples. We performed comparative studies of various liquid sample presentation techniques described in the literature, mostly based on liquid-to-solid conversion (e.g. drying of the solution onto various substrates, pelletization, etc.) or sandwiching a liquid layer between optical windows. We found that the most practical and also one of the most effective technique, in terms of figures of merit, is the approach in which a μL -volume sample is pipetted into a small recession made in a metal plate and dried before LIBS analysis. Another promising technique, still under development, is the use of microfluidic channels made of polydimethylsiloxane. Under optimized conditions we achieved $\mu\text{g/mL}$ range detection limits with these sample presentation techniques.

Last but not least, in selected analytical applications of SP-LIBS and MP-LIBS, we also demonstrated how some numerical data evaluation methods (e.g. simple statistical functions like linear correlation, sum of squared deviations, overlapping integral, etc.) can be employed to provide sample discrimination based on the LIBS spectra of different samples. Results obtained in the discrimination of soldering tin, paper and print samples are presented. It has been established that the use of the UV and the Vis range spectra provide nearly equal performance and that spectral masking did not significantly improve the results. The results were best for soldering tin samples; such samples can be discriminated well even when they are identical in their major composition and only differ in their trace contaminants. The identification of paper and print samples is a more difficult task, mainly due to the more varied composition and the differences in the penetration depth of the ink and toner material into the paper.

Háromdimenziós konvektív instabilitás tanulmányozása a klorit-tetrationát autokatalitikus reakcióban

PÓPITY-TÓTH Éva,^{a,*} SCHUSZTER Gábor,^a HORVÁTH Dezső^b és TÓTH Ágota^a

^aSZTE TTIK Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék, Rerrich Béla tér 1, 6720, Szeged, Magyarország

^bSZTE TTIK Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszék, Rerrich Béla tér 1, 6720, Szeged, Magyarország

1. Bevezetés

A minket körülvevő világban előforduló különféle anyagok valamilyen transzportfolyamat révén kerülnek mozgásba, és ennek következtében a mindennapi életünkre igen jelentős befolyásoló tényezőként hatnak. Elég csak a leggyakrabban előforduló anyagtranszportok által előidézett óceáni áramlatokra, a szennyeződések terjedésére, vagy éppen a kőzetlemezek mozgására gondolnunk. Fontos szerepet töltenek be az emberi szervezetben történő véráramlás fenntartásában is. Ezen jelenségek kísérleti tanulmányozása nélkülözhetetlen, hiszen a természet erőinek a megnyilvánulásakor nagymértékben hatnak ránk. Ezek következtében létrejövő geometriai formákat mintázatoknak nevezzük, amiket autokatalitikus modellreakciók segítségével részletesen is tanulmányozhatunk. Az autokatalízis során valamelyik képződött termék gyorsítja azt a reakciót, amiben ön maga is termelődik.¹

A részecskék térbeli elmozdulása leggyakrabban a koncentrációradiens hatására létrejövő diffúzió révén, a gravitációs erőterben kialakuló közegmozgás következtében, valamint a külső elektromos tér által ionokra gyakorolt migrációval valósulhat meg. A konvekció sűrűségkülönbség, valamint a viszkozitás és a felületi feszültség változása eredményeképpen alakulhat ki. Gravitációs erőterben a közegmozgás hatására mintázatképződés indukálódik a különböző térállású reakcióedényekben, vagyis a rendszer hidrodinamikai stabilitása függ a reakciófront irányultságától is.²⁻⁴

A kémiai reakciók és az anyagtranszport kölcsönhatásának eredményeképpen egy éles határvonal fejlődik ki a termék- és a reaktánsoldatok között, amelynek a két oldala közt állandó sűrűségkülönbség alakul ki.⁵ Ezt a határvonalat, amely az autokatalitikus reakció tér- és időbeli lejátszódásakor megfigyelhető, kémiai frontnak nevezzük. Számos példa található az irodalomban ilyen reakciófrontot adó rendszerre.^{6,7} A folyamatok során kifejlődő frontok alakját és mozgását eltérő mértékben képes befolyásolni a kémiai összetétel módosulása, illetve az exoterm reakcióban bekövetkező hőfelszabadulás miatt fellépő oldatsűrűség-változás. Ez igaz az általunk tanulmányozott klorit-tetrationát (CT) savas frontreakcióra is, ahol a képződött termékoldat sűrűsége nagyobb lesz, mint a reaktáns izoterm körülmények között.^{6,8,9} Kis klorition-felesleg biztosítása szükséges a tetrationát autokatalitikus oxidációjához,^{3,10,11} és ekkor egy könnyen kezelhető, jól reprodukálható kísérleti eredményeket biztosító rendszert kapunk.

A közegmozgás részletes tanulmányozásához az áramlás teljes, háromdimenziós profilja megszerkeszthető a modern

részecske-képen alapuló sebesség-meghatározási módszer¹²⁻¹⁴ (Particle Image Velocimetry, PIV) alkalmazásával. Az eljárás alapja, hogy a folyadék mozgását a közeghez adagolt, a folyadékkal közelítőleg azonos sűrűségű, mikroméretű fényszóró részecskék vizsgálatával követik nyomon. A mérés során a közeget egy vékony, síkká expandált lézernyaláb segítségével kell megvilágítani, és a szóródott fényt kamerával rögzíteni. A térbeli felbontástól függően meghatározott számú síkban kísérhetjük figyelemmel a fluidumok mozgását. A képek analízisével a folyadék elmozdulása és az áramlás sebessége meghatározható.^{15,16}

Munkánk során célunk volt a reakcióter harmadik dimenziójának kiszélesítésekor kialakuló mintázatok tanulmányozása. Továbbá az állandósult alakzatok kialakításában fontos szerepet játszó áramlási viszonyok feltérképezését is elvégeztük, amit a részecske-képen alapuló sebesség meghatározási módszer segítségével valósítottunk meg.

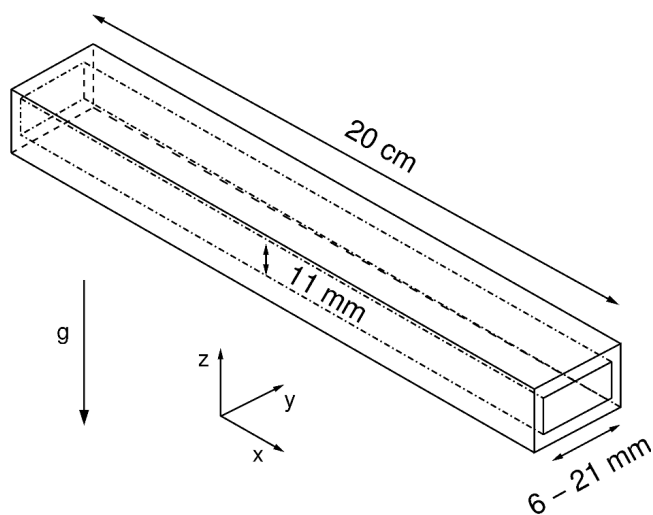
2. Eredmények

A CT reakció exoterm, vagyis a front mögötti hőmérséklet-növekedés által kiváltott sűrűségecsökkenés fontos szerepet játszhat a front alakjának kialakulásában. Izoterm sűrűségviszonyokat figyelembe véve, a folyamatot vízszintes haladó, függőlegesen inicializált, vékony (3 mm-nél keskenyebb) folyadékrétegben megvizsgálva azt tapasztaljuk, hogy a termékoldat alsósüllyed a reaktánsoldatnak, és így a kezdeti sík front a közegmozgás következtében elveszíti stabilitását. Ekkor egy konvekciós gyűrű fejlődik ki, amelynek a hatására az eredetileg függőleges front megdől, és egy állandó sebességgel haladó stabil alak jön létre.¹⁷ A folyadékréteg vastagságának növelése során az izoterm körülmény a rendszer termosztálásával sem tartható fenn, és a frontot a hőmérséklet-változás miatti sűrűségmódosulás is befolyásolja. Ebben az esetben folyamatosan változó szerkezet kifejlődése tapasztalható.¹⁸

Egy speciális üvegküvetében (lásd az 1. ábrán) színes kamerával rögzített kísérletek során folyamatosan változó alakokat fedeztünk fel 6 mm széles reakcióedény használatakor, mivel a hőfelszabadulás és az edény falán keresztül történő hőleadás ekkor összemérhető nagyságúvá vált.¹⁹ Ezután növeltük a reakcióedény szélességét, és már 11 mm oldatvastagságnál időben állandósult, valamint állandó sebességgel terjedő cellás szerkezetek kialakulását tapasztaltuk. A 2. ábra szemlélteti a front oldalnézeti képét, ahol a kialakult mintázat két részét különíthetjük el

* Főszerző. Tel.: 62/544614; fax: 62/546482; e-mail: popity@chem.u-szeged.hu.

egymástól. A front elülső részén azt a szakaszt értjük, ahol a kétféle sötét szín árnyalatában különbség tapasztalható, vagyis a jobb oldalán a friss reaktánsoldat helyezkedik el, míg a másik oldalon vegyes oldatréteg van. A hátulsó frontalak a már teljesen átalakult termékoldat világos színénél található elválasztva attól a résztől, ahol mind a reaktáns, mind pedig a termék is bizonyos mértékben jelen van az áramlási viszonyoknak köszönhetően. Egy saját készítésű program segítségével mindkét részt mennyiségileg és minőségileg is jellemeztük. A 3. ábrán bemutatott frontalakok jó egyezést mutatnak a front elülső szakaszának tekintetében a különböző szélességű reakcióedényeknél. Feltételezhetően az exoterm reakció során végbemenő hőtermelődés segíti a mintázat stabilizálódását, és függetlenné válik a mintázat kialakulása az oldatréteg vastagságának növelésétől. Megállapítható, hogy kellően vastag oldatrétegekben lehetséges állandó sebességgel haladó állandósult alakzatokat létrehozni, hiszen a folyadék vastagságának növelésével a hőhatás már annyira nagy mértékűvé válik, hogy a falon keresztül történő, a hőmérséklet csökkentése érdekében véghezvitt hűtés hatásfoka nem lesz megfelelő.



1. Ábra. Az üvegvékta sematikus rajza.

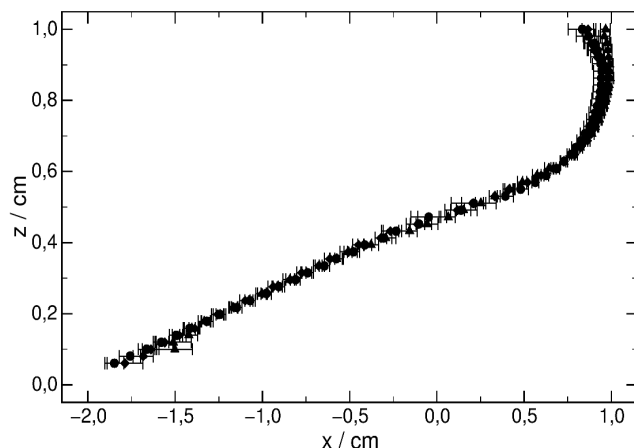


2. Ábra. Balról jobbra haladó front oldalnézeti képe 21 mm széles és 11 mm magas üvegvékttában. A sötét rész a reaktáns-, míg a világos rész a termékelegyek felel meg.

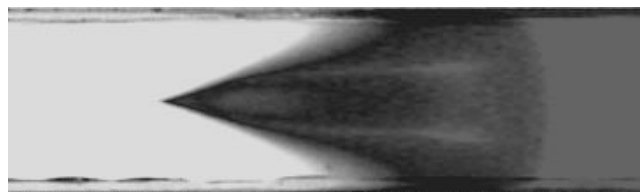
Ugyanarról a kísérletről, ugyanabban az időpillanatban rögzített felülnézeti kép a 4. ábrán látható. Itt is megfigyelhető a kialakult szerkezet három részre való elkülönülése. Az elülső rész kvantitatív jellemzése során az átlagos frontalakzatok y koordinátáit elosztottuk a megfelelő edényszélességekkel, és megkaptuk a normalizált frontalakokat, amelyek jó átfedést mutattak.

Azt tapasztaltuk, hogy felülnézetből az alakzat hátulsó részén a rendelkezésre álló térnek megfelelően különböző nagyságú, viszont azonos (körülbelül 34 fokos) nyílási szögű fektetett V formájú mintázatok keletkeztek a reakció lejátszódása folyamán, amit az 5. ábrán figyelhetünk meg. Megállapítottuk, hogy a kialakuló stabil front sebessége is

független az edény szélességétől adott oldatréteg vastagság felett.

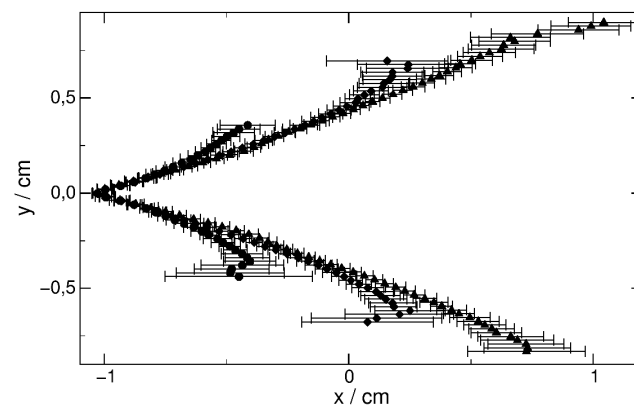


3. Ábra. Az időben állandó mintázatra jellemző átlagos frontalakok oldalnézet esetében: 11 mm (kör), 16 mm (rombusz), 21 mm (háromszög) széles küvétánál.



4. Ábra. Balról jobbra haladó front felülnézeti képe 21 mm széles üvegvékttában. A sötét rész a reaktáns-, míg a világos rész a termékelegyek felel meg.

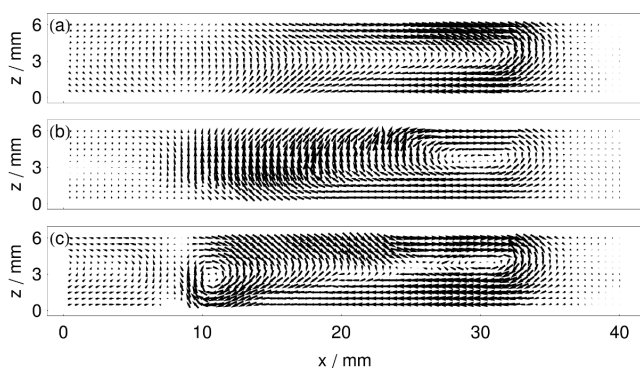
A reakció során létrejövő háromdimenziós áramlási viszonyok feltérképezésének eredményeképpen elmondható, hogy a folyadék mozgását egy elnyúlt konvekciós gyűrű jellemzi a reakcióedény falánál lévő rétegekben. Ennek következtében egy erőteljes lefelé áramlás figyelhető meg a front elején, míg a közeg felfelé történő mozgása nem túl erős, és csak elnyúltan, távol a front mögött fedezhető fel, ahogyan azt a 6. (a) ábra is szemlélteti.



5. Ábra. Felülnézet esetén az időben állandó mintázatok hátulsó részének az átlagos frontalakjai: 11 mm (kör), 16 mm (rombusz), 21 mm (háromszög) széles küvétánál.

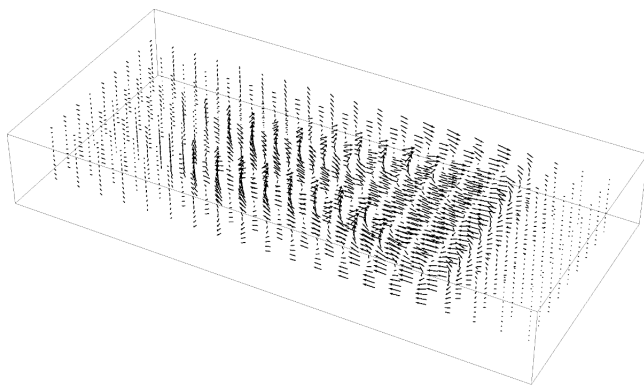
Az edény falától távolabbi metszetben a konvekciós gyűrű hosszának a rövidülését észleljük, és a front menti lefelé áramlás mellett a közegben egy erős, hosszan elnyúló

felfelé irányuló mozgás is létrejön (lásd a 6. (b) ábrán). Ezt támasztja alá a front elülső és hátulso része közötti zóna megjelenése a korábbi kísérletek során. A 6. (c) ábra a folyadékréteg közpső részéről készített metszetet mutatja be, ahol egy újabb konvekciós gyűrű kialakulása figyelhető meg. A két gyűrű között létrejövő áramlás összetett, hiszen az óramutató járásával azonos irányban (hátra- és felfelé) mozgó közeg érintkezik az előre- és lefelé áramló közeggel. Ez a folyamat megváltoztatja az első gyűrű által előidézett áramlási viszonyokat, amely a 4. ábrán látható felülnézeti kép fektetett V formáját eredményezi.²⁰ A fronttól távolodva az ellentétes irányú konvekciós gyűrűvel jellemezhető áramlás is megtalálható a perdület-megmaradás törvénye értelmében, viszont a távolság növekedése és az áramlás gyengülése miatt ez már nem képes befolyásolni a háromdimenziós szerkezetet. Az áramlási profil a faltól távolodva szimmetrikusan módosul, ahogyan azt a megfigyelt alakzat is alátámasztja.



6. Ábra. Áramlási profilok 2 (a); 6 (b); és 10 (c) mm távolságban a reakciótér falától.

A kísérlet felülnézeti, indikátorral megszínezett képe alapján az egymástól 2 mm távolságban lévő áramlási síkokat egymás mellé illesztve megkaptuk a reakciótér háromdimenziós áramlási profilját, amit a 7. ábra illusztrál. Az eredményként bemutatott vektortér jól leírja a kísérleti tapasztalatokat az indikátor jelenlétében megfigyelt alakzatok esetében. Ezt alátámasztja a front elülső részének együttes mozgása, a két felfelé irányuló áramlási zóna szimmetrikus megjelenése, illetve az áramlási tér közepén felfedezhető újabb konvekciós gyűrű megjelenése is. Az ábra nem tartalmaz információt a folyadékrétegek keresztirányú mozgásáról, aminek a feltérképezése a következő lépés lesz a teljes áramlási kép kialakításához.



7. Ábra. A reakciótér háromdimenziós áramlási profilja. Az ábrázolt terület 41,0 mm × 6,3 mm nagyságú.

3. Összefoglalás

A klorit-tetratonát autokatalitikus reakcióban a harmadik térbeli dimenzió kiszélesítésével létrehozott mintázatok vizsgálatát végeztük el. A frontalakzatok kiértékelésekor tapasztaltak alapján elmondható, hogy a reakció előrehaladtával kialakuló, az időben állandó alakkkal és sebességgel jellemezhető felülnézeti és oldalnézeti stabil alakok mennyiségi jellemzője egy kritikus edényszélesség felett független az oldatvastagságtól. Az ekkor létrejövő igen összetett frontprofil egy jellegzetes, felülnézetből fektetett V formájú hátulso résszel rendelkezik, ami az oldatréteg vastagságától függetlenül mindig azonos szöveget zár be. Hasonló mintázatok kialakulását sikerült korábban is megfigyelni a háromdimenziós hullám vízszintes terjedésének tanulmányozása során a jodát-arzénessav rendszerben.²¹ Az is megállapítható a kísérleteinkből, hogy a CT reakció során végbemenő hőfelszabadulás képes stabilizálni a mintázatot.

A vastag oldatrétegekkel végrehajtott kísérletek folyamán tapasztalt összetett alakzatok kialakulásának megértése érdekében meghatároztuk az adott rendszerben létrejövő áramlási viszonyokat, amihez a részecske-képen alapuló sebesség-meghatározási módszert alkalmaztuk. Az így előállított áramlási profil segítségével az előbbi bekezdésben említett háromdimenziós alakzat jellegzetes vonásai egyértelműen magyarázhatóak. A PIV eredményei alapján is megállapítható, hogy állandósult mintázat alakul ki, melynek áramlási képe nem azonos a reakcióedény teljes szélességében. Az egyes függőleges metszetekről készült áramlási képek jó egyezést mutattak az eddigi eredményekkel, ugyanis a különböző rétegekben létrejövő konvekciós gyűrűk jól alátámasztják a harmadik dimenzió kiszélesítésekor tapasztalt összetett áramlást, ami a felülnézeti V alak kialakításáért felelős.

4. Kísérleti rész

A reaktánsoldatokat analitikai tisztaságú vegyszerekből (Sigma-Aldrich, Reanal, Spektrum 3D) és kétszer ioncserélt vízből készítettük el. A reakcióközegben a kálium-tetratonát- (5 mM) és a nátrium-klorit-oldat (20 mM) kiindulási koncentrációjának aránya 1:4 volt. Az elegyhez nátrium-hidroxid-oldatot (5 mM) adagoltunk a reakció azonnali beindulásának megakadályozása céljából. A rendszerhez még brómfenolkék indikátort (0,08 mM) is adtunk, hogy a megfelelő színváltozást figyelemmel kísérve a reakció lejárásdátája szabad szemmel is követhető legyen.

A háromdimenziós makroszkopikus önszerveződés tanulmányozása során egy speciális üvegvázát alkalmaztunk, aminek a szélességét (y tengely) 6 és 21 mm között változtattuk, míg a magassága (z tengely) minden esetben 11 mm volt (lásd az 1. ábrán). A kísérletet egyidejűleg felül- és oldalnézetből is nyomon követtük két, egymással 45 fokos szöveget bezáró tükör segítségével. A kísérletek precíz tanulmányozásához elengedhetetlen a megfelelően sík front iniciálása, amihez 0,25 mm átmérőjű platinaelektrodokon véghezvitt anódos oxidációt alkalmaztunk. Számítógéppel összekapcsolt képfeldolgozó rendszer segítségével az alakzat terjedési sebességétől függően meghatározott időközönként a kialakult mintázatról

fényképeket rögzítettünk, amelyeknek a különböző fényintenzitásaihoz szűrkeségi skálát rendeltünk. A front terjedésével párhuzamosan (x tengely) az adott pontokhoz tartozó szűrkeségi értékek hely szerinti deriváltjának minimuma megadta az adott időpillanathoz tartozó front helyzetét. A front időbeli előrehaladásának kiküszöbölése érdekében minden front esetén kivontuk a frontprofilok összes pontjának x koordinátájának értékéből az átlagos frontpozíció értékét. Így a kísérletileg mért adatok alapján készült ábrákon a frontalak átlagos helyét minden esetben az $x=0$ cm koordinátához toltuk.

A PIV módszer alkalmazásakor a háromdimenziós áramlási képet az edény falától mért 9 különböző távolságban 2 milliméterenként vizsgáltuk meg, majd az adott térrészben a Mathematica programcsomaggal rajzoltuk meg az áramlási profilokat. Ebben az esetben a reakcióedény által körülhatárolt tér 300 mm hosszú, 10 mm magas és 20 mm széles volt. Az általunk alkalmazott zöld fényű, 532 nm hullámhosszú, 100 mW kimeneti teljesítményű lézer útjába két gyűjtőlencsét (egy henger- és egy szférikuslencsét) helyeztünk el. A reaktánskegelyhez 6,4 μ m átmérőjű latex gyöngyöket (Sigma-Aldrich) adtunk 0,01 tömegszázalékos mennyiségben. Ezen kísérletek során alacsonyabb koncentrációban (0,0048 mM) alkalmaztuk az indikátort, mert csak a front szabad szemmel való nyomon követése céljából volt rá szükségünk, míg a korábbi esetben a kamerának is érzékelnie kellett a színváltozást. A kiértékelés során a kísérletről készült felvételeket kisebb részterületekre osztottuk, és az egymás után készült képek azonos részterületei közti térbeli korrelációt a szűrkeségi érték-hely függvények Fourier-transzformációjára vonatkozó összefüggés alapján állapítottuk meg. A korrelációs függvények maximumának helye megadta az adott térrészekhez tartozó elmozdulás vektorokat, amelyek segítségével a teljes háromdimenziós reakcióter áramlási viszonyai reprezentálhatóak.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás az Európai Unió támogatásával az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával, a TÁMOP-4.2.2.A-

11/1/KONV-2012-0047 projekt, illetve az Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok (K 072365) keretében valósult meg. Köszönetet mondunk Pengő Editnek a PIV kiértékelő program elkészítéséért.

Hivatkozások

1. Atkins, P.W. *Fizikai kémia III: Változás*, Tankönyvkiadó: Budapest, **1992**.
2. Epstein, I. R.; Pojman, J. A. *An Introduction to Nonlinear Chemical Dynamics: Oscillations, Waves, Patterns, and Chaos*, Oxford University Press: Oxford, **1998**.
3. Szirovicza, L.; Nagypál, I.; Boga, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 2842–2845.
4. Póta, Gy.; Stedman, G. *Models in Chemistry* **1994**, *131*, 229–268.
5. Bazsa, Gy.; Epstein, I. R. *J. Phys. Chem.* **1985**, *89*, 3050–3053.
6. Nagypál, I.; Bazsa, Gy.; Epstein, I. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 3635–3640.
7. Pojman, J. A.; Epstein, I. R. *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 4966–4972.
8. Horváth, D.; Bánsági, T. Jr.; Tóth, Á. *J. Chem. Phys.* **2002**, *117*, 4399–4402.
9. Yang, J.; D’Onofrio, A.; Kalliadasis, S.; De Wit, A. *J. Chem. Phys.* **2002**, *117*, 9395–9408.
10. Tóth, Á.; Horváth, D.; Siska, A. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1997**, *93*, 73–76.
11. Horváth, A. K.; Nagypál, I.; Epstein, I. R. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 9877–9883.
12. Buchhave, P. *Exp. Thermal Fluid Sci.* **1992**, *5*, 586–604.
13. Grant, I.; Smith, G. H. *Opt. Lasers Eng.* **1988**, *9*, 245–264.
14. McKenna, S. P.; McGillis, W. R. *Exp. in Fluids* **2002**, *32*, 106–115.
15. Šebestíková, L.; D’Hernoncourt, J.; Hauser, M. J. B.; Müller, S. C.; DeWit, A. *Phys. Rev. E* **2007**, *75*, 026309.
16. Eckert, K.; Acker, M.; Shi, Y. *Phys. of Fluids* **2004**, *16*, 385–399.
17. Schusztter, G.; Tóth, T.; Horváth, D.; Tóth, Á. *Phys. Rev. E* **2009**, *79*, 016216.
18. Rongy, L.; Schusztter, G.; Sinkó, Z.; Tóth, T.; Horváth, D.; Tóth, Á.; De Wit, A. *Chaos* **2009**, *19*, 023110.
19. Pópity-Tóth, É.; Horváth, D.; Tóth, Á. *Chaos* **2012**, *22*, 037105.
20. Schusztter, G. Ph.D. disszertáció, SZTE TTK, 2013.
21. Šebestíková, L.; Hauser, M. J. B. *Phys. Rev. E* **2012**, *85*, 036303.

Convective instability in the three-dimensional chlorite-tetrathionate system

Materials surrounding us can propagate via various types of transport processes, which have a great effect on our everyday lives. It is sufficient to think of the various atmospheric formations, the sea currents, the spreading of pollution or the tectonic movements. Because these phenomena affect us strongly, it is essential to study them experimentally. The interaction of chemical reactions with transport processes may lead to various spatiotemporal patterns in distributed systems which can be investigated by autocatalytic model reactions.

Generally, materials can be transferred by diffusion, convection, and in the presence of an external electrical field, ionic migration. Fluid motion can be influenced by the change in density, viscosity, or surface tension. In the presence of gravity, the arising convective motion of a fluid medium represents an additional process contributing to the pattern formation.

One of the simplest forms of pattern formation is a reaction front propagating in a homogeneous medium due to the coupling of transport processes with an autocatalytic reaction providing the positive feedback. The chemical front, defined as a thin zone where the reaction takes place at a considerable rate, spatially separates the reactants from the products. The front may also be considered as an interface separating two fluids with constant density difference at the two side. Hence, planar reaction fronts resulting from the coupling of exothermic autocatalytic reactions and transport processes can be deformed by convection in the presence of gravity field since density may vary in the course of the reaction because of the change in the chemical composition and/or the exo- or endothermicity of the reaction resulting in a temperature rise or drop.

For a horizontal planar front a buoyantly unstable stratification occurs if the solution with greater density lies on top of the other

giving rise to cellular fronts. The arising fluid motion will distort the reaction front leading to cellular pattern in a process called density fingering. A vertical planar front in a fluid medium is always unstable hydrodynamically under gravity when the density of the reactant and the product mixture is different. Hence, the denser fluid tends to sink under the other giving rise to fluid motion. Even though the reactant and product mixtures are miscible, the autocatalytic reaction front maintains a constant gradient between the two solutions, therefore the system in many aspects resemble an immiscible nonreactive case.

We have experimentally studied the propagation of such a self-organized interface in a three-dimensional medium. The buoyancy-driven spatiotemporal pattern formation in an autocatalytic reaction is monitored simultaneously from the top and the side of the reaction vessel as shown in Figure 1. We utilize the chlorite oxidation of tetrathionate in slight chlorite excess as our model reaction. Under the experimental conditions applied, the product solution in the vicinity of the chemical front is lighter than the reactant as seen in Figure 2. We systematically change the physical size of the medium by adjusting the geometry of the reaction vessel containing the aqueous solution so the solution thickness increases. The reaction is initiated electrochemically by electrolysis. The reaction front arising initially deforms and propagates horizontally across the vessel at room temperature. The evolution of the front is monitored by a color digital camera. The obtained images are processed later by in-house software where not only the position of the interface but also the front velocities are determined. The pattern is characterized quantitatively by the average front profile (see Figure 3) calculated from the constant front profiles, i.e., excluding the transition zone in the vicinity of the initiation, by setting the average position to zero, thus eliminating the propagation with constant speed.

We have discovered continuously changing shapes when from 3 to 6 mm thick vessels are used, since the heat release and the heat transfer through the vessel wall become comparable. As the thickness of the glass cuvette is increased, a stable front with constant velocity and shape may develop exhibiting two characteristic regions: a leading symmetric edge in Figure 2 and a V-shaped trailing cusp illustrated in Figure 4. The leading edge is indicated by the gray scale transition in the darker regions and forms a simple parabolic curve that resembles the geometry associated

with reaction fronts propagating horizontally in a thin vertical slab. The trailing edge, appearing as the gray scale transition from dark to light, has a more structured geometry, which reveals that the local dynamics is not driven by a single large convection roll as in thin reaction vessels. We have shown that the side view of the final stable pattern is independent of the solution thickness because the final leading edges in the horizontal projection presented in Figure 3 overlap within the experimental error. The top view of the leading edge forming a single cell, however, scales with the solution thickness. Furthermore, the vertical projection of the trailing cusps increases on increasing the solution thickness as shown in Figure 5. The V-shaped center cusp, arising from the coalescing of the thin segments of ascending solution, has a constant angle (approximately 34 degrees) for solution thickness in the range of 11-21 mm, in which case the front speed is also independent of the thickness, while transverse oscillatory motion exists for narrower (3-6 mm thick) containers. In the exothermic chlorite-tetrathionate reaction heat is dissipated which facilitates the stabilization of the pattern if the width of the liquid is greater than a critical value. Due to the increase in temperature, the density decreases which results in ascending solution segments creating a center cusp at the trailing edge of the reaction front.

The fluid motion in the reaction vessel is determined by using the particle image velocimetry method. In this technique, the light scattered by small particles that follow the liquid flow is recorded by an imaging system. The captured pictures are then distributed into smaller interrogation windows and the spatial correlation function between these windows has been calculated by using the Fourier-transforms of the gray scale field for subsequent images. The maximum position of the correlation function provides the displacement associated with the motion in the selected window. These vectors are then used to create the entire flow field. The vector field can explain the evolution of the characteristic regions of the investigated shape well. At the side walls we have observed (see Figure 6) a single large convection ring with a strong downward flow at the tip of the front, while the medium moves upward far behind the front. Far from the walls the convection ring becomes smaller, at the same time the downward flow is maintained. In the middle of the liquid layer a second convection ring develops that rotates in the same direction as the first one and modifies the flow in the wake of the front. This effect generates a cusp, hence it is responsible for the constant V shape.

Aminonaftol enantiomerek nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás vizsgálata: A hőmérséklet hatása a királis elválasztásra

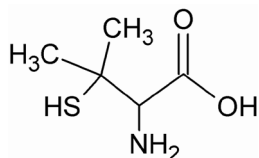
ARANYI Anita,* PATAJ Zoltán, ILISZ István és PÉTER Antal

Szegedi Tudományegyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Dóm tér 7, 6720 Szeged, Magyarország

1. Bevezetés

A mai modern analitikai kémia egyik legfontosabb feladata a királis vegyületek, különösen a biológiai és gyógyszerészeti jelentőséggel bíró anyagok enantiomerjeinek elválasztása.

Ha egy racém gyógyszermolekula a királisan szelektív élő szervezetbe kerül, annak enantiomerjei különbözhetnek a biológiai hasznosíthatóság, megoszlás, metabolizmus, kiürülés vagy a hatás típusában és mértékében. Ilyen például a penicillamin (*S*) enantiomer formája, mely kiváló ízületi gyulladáscsökkentő hatóanyag, míg (*R*) enantiomer párja toxikus (1. ábra).



1. Ábra. Penicillamin.

Érthető tehát, hogy sztereoizomer keveréket gyógyszerhatóanyagként csak indokolt esetben lehet forgalomba hozni. Napjainkra a szabályozás olyannyira szigorodott, hogyha racémát hatóanyagot kívánunk bevezetni, akkor mindkét enantiomerre, és a racémára is el kell végeznünk az összes klinikai és toxikológiai vizsgálatot. Így egyértelmű, hogy a racémát forgalomba hozatala többletkiadással jár, tehát a fejlesztések mára már kizárólag enantiomer tiszta vegyületek irányába folynak.¹

A királis vegyületek izomerjeinek elválasztására több lehetőség adódik, melyek közül a kristályosítás (rezolválás), a kromatográfia különböző fajtáit, és a kapilláris elektroforézist alkalmazzák leggyakrabban.

A folyadékkromatográfia a mozgó-, illetve az állófázisok egyszerű változtatása révén (igen sok eltérő jellegű állófázis kapható napjainkban kereskedelmi forgalomban) a királis vegyületek elemzésének leggyakrabban alkalmazott analitikai módszere. Bármilyen kromatográfiás módszernél az elválasztás úgy történik, hogy a vizsgált vegyület időlegesen diasztereomer párt képez az állófázis vagy a mozgófázis optikailag aktív komponensével.²

2. Poliszacharid alapú királis szelektorok

A poliszacharid alapú kolonnák királis állófázisként történő alkalmazásának nagy hagyománya van a folyadékkromato-

gráfiában. A mikrokristályos cellulóz-triacetát alkalmazása (MCTA) - mint váz nélküli polimer szelektor - az 1970-es évekre nyúlik vissza. Napjainkban makropórusos szilikagélre felvitt poliszacharid származékokat használnak, amelyeknek jobb a mechanikai stabilitása. A 2. ábrán látható, hogy a glükóz egységek három szénatomjának OH-csoportját módosítva, különböző kölcsönhatásra alkalmas észter és karbamát csoportokat építhetünk be a molekulába.

Polimer lánc	Szelektor szerkezete	Szelektor elnevezése	Kereskedelmi név
		cellulóz trisz-(4-metilbenzol)	a
		cellulóz trisz-(3,5-dimetilfenilkarbamát)	b
		cellulóz trisz-(3,5-diklorofenilkarbamát)	c
		cellulóz trisz-(4-klór-3-metilfenilkarbamát)	d
		cellulóz trisz-(3-klór-4-metilfenilkarbamát)	e

2. Ábra. A különböző cellulóz alapú kolonnák szerkezete *a*, Chiralcel OJ; Lux Cellulose-3 *b*, Chiralcel OD, Kromasil CelluCoat, Lux Cellulose-1, RegisCell, Nucleocel Delta, Eurocel 01; *c*, Chiralpak IC; *d*, Chiralcel OZ; Lux Cellulose-4 *e*, Lux Cellulose-2;

Az ilyen állófázisokat a Daicel (Tokió, Japán) cég tervezte és hozta először forgalomba, de az utóbbi években számos új cég jelentkezett hasonló típusú kolonnákkal. Ezek az állófázisok a hordozó szilikagél minőségében, az amilóz és cellulóz lánc polimerizációs fokában, és az állófázishoz való rögzítés módjában jelentősen különbözhetnek egymástól, ezért szelektivitásukban is jelentős különbségek jelentkezhetnek.

Ha a polimerek csak fizikailag kötődtek az állófázis felületén, akkor a hordozóról való lemosás lehetősége miatt nem alkalmazható minden oldószer. Ezáltal jelentős előrehadást jelentett a kémiailag kötött poliszacharid fázisok bevezetése. A szilikagélhez történő kémiai kötés lehetővé teszi a mozgófázisként szóba jöhető oldószerek minőségének kiterjesztését az úgynevezett nem-standard oldószerekre, például a diklórmétán, kloroform, tetrahidrofuran, dioxán, stb. Érdemes azt is megemlíteni, hogy ezek a fázisok manapság fordított fázisú rendszerként is alkalmazhatók,

* Főszerző. Tel.: +36 (62) 34-3656; fax: +36 (62) 54-4340; e-mail: aranyia@chem.u-szeged.hu

azonban tudnunk kell, hogy a fázisok közötti váltással némi hatékonyság csökkenést tapasztalhatunk.

A poliszacharid alapú királis állófázisok optikai szelektivitása három fő szerkezeti tulajdonságból tevődik össze:

- * molekuláris kiralitás: amely a glükóz csoportokon elhelyezkedő kiralitáscentrumoknak tulajdonítható,
- * konformációs kiralitás: amely a szénhidrátlánc lináris (cellulóz alapú), vagy helikális (amilóz alapú) konformációs szerkezetének tulajdonítható, és
- * szupramolekuláris kiralitás: amely a szomszédos polimerláncok királis rendezettségéből adódik.

A poliszacharid állófázisok esetében az izomerekkel π -sav π -bázis, dipól-dipól és hidrogénhidas kölcsönhatások alakulhatnak ki. Mindemellett fontos szerepet játszhat a nagyobb terjedelmű aromás oldalláncok szterikus hatása is. A merev, viszonylag nagy térkitöltésű aromás szubsztituensek ebben az esetben a felületen helyezkednek el, és jelentősen befolyásolják a H-híd kötés kialakulását, ugyanis az „mélyen elrejtett” a szénlánc mentén.

A π - π kölcsönhatás számos királis állófázisnál játszik döntő szerepet. Ha az aromás részen elektronküldő, vagy elektronhiányos csoport van szubsztituensként, akkor a két aromás gyűrű között kölcsönhatás alakulhat ki. Az állófázist, amelynél elektron hiány van, nevezhetjük az általános sav-bázis elmélet értelmében Lewis savnak, amelynél az elektronsűrűség megnövekszik Lewis bázisnak. A vizsgálandó vegyületeknél általában az aromás gyűrű elektron hiányos vagy elektron többlete van, ez az alapja, hogy egy elektron hiányos aromás rész és egy elektron többlettel rendelkező enantiomer között π -sav- π -bázis kölcsönhatás alakulhat ki. A karbamát és észter funkció csoportok stabilizálják a molekula-szelektor komplexet, illetve erősítik a π - π kölcsönhatást.

A poliszacharid állófázisoknak ezt az általános kötésmechanizmusát IR és NMR mérések is alátámasztják.³

3. A hőmérséklet királis kromatográfiás elválasztásra gyakorolt hatásának rövid irodalmi áttekintése

A kromatográfiás paraméterek hőmérséklet függésének vizsgálata a királis kromatográfiás retenciós mechanizmus feltérképezésének egyik lehetséges módja is lehet. Ennek során kapott termodinamikai adatok ugyan egyensúlyi rendszerekre igazak - mely nem feltétlen teljesül a kromatográfiás folyamatok dinamikus rendszereire - azonban megfelelő becslést tudnak nyújtani az elválasztási folyamatok értelmezésénél.

Egy, a termodinamikából ismert összefüggés kapcsolatot teremt a standard szabadentalpia változása és az egyensúlyi állandó (ami kromatográfiás retenció esetén a megoszlási hányados) között, miközben az adott komponens az egyik fázisból a másikba kerül:

$$RT \ln K = -\Delta G^\circ \quad (1)$$

Ha megvizsgáljuk a két enantiomer standard szabadentalpia változásának a különbségét, következtetéseket tudunk

levonni a mechanizmusról:

$$\Delta G_2^\circ - \Delta G_1^\circ = \Delta(\Delta G^\circ) \quad (2)$$

A már ismert Gibbs-Helmholtz formulát (1), az előző egyenletbe behelyettesítve a következő összefüggéshez jutunk:

$$-\Delta(\Delta G^\circ) = RT \ln (k_2/k_1) \quad (3)$$

A k_1 és a k_2 a két enantiomer retenciós faktorát jelöli, ezáltal az α elválasztási tényező a két enantiomer csúcs egymáshoz viszonyított helyzetét adja meg. Az elválasztási tényezőt behelyettesítve az előző egyenletbe a következő kifejezést kapjuk:

$$-\Delta(\Delta G^\circ) = RT \ln \alpha \quad (4)$$

Ismerjük még a standard szabadentalpia változás különbségének definícióját is a Gibbs-függvényből:

$$\Delta(\Delta G^\circ) = \Delta(\Delta H^\circ) - T\Delta(\Delta S^\circ) \quad (5)$$

Így $\ln \alpha$ egyszerűsítések után kifejezhető a következő formulával, melyet kromatográfiában használatos van't Hoff egyenletnek is hívunk:

$$\ln \alpha = -\frac{\Delta(\Delta H^\circ)}{RT} + \frac{\Delta(\Delta S^\circ)}{R} \quad (6)$$

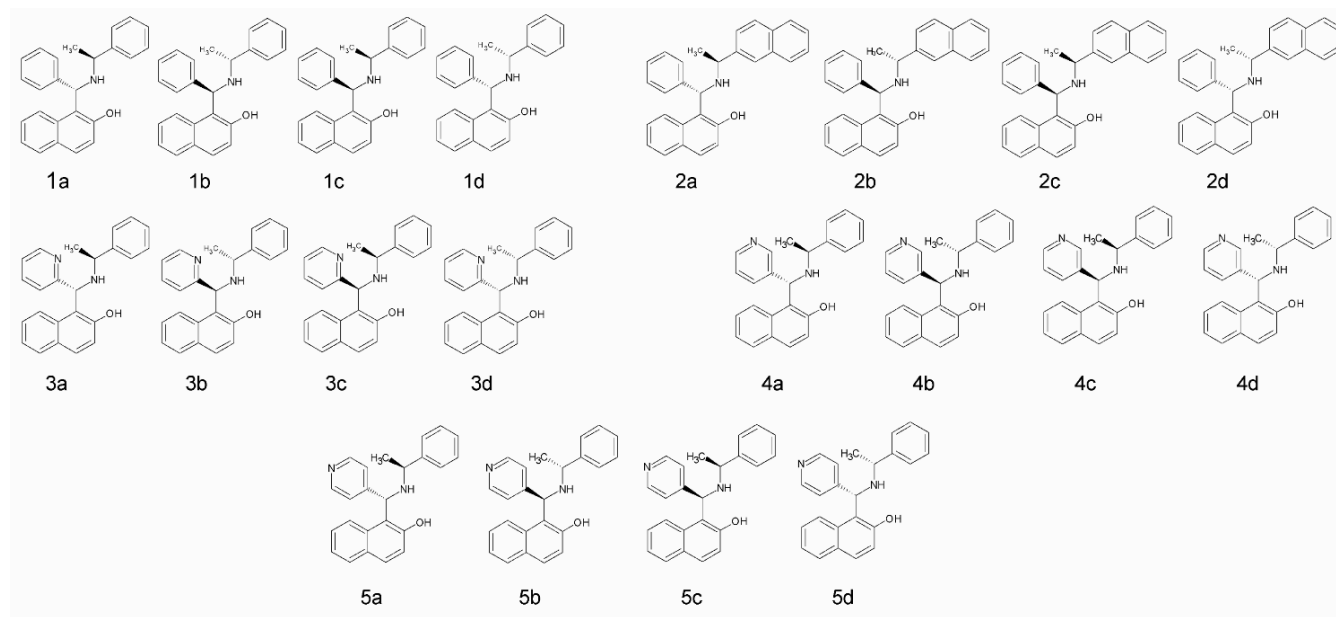
Tehát az egyenlet szerint $\ln \alpha$ -t $1/T$ függvényében ábrázolva egyenest kapunk, melynek meredeksége $-\Delta(\Delta H^\circ)/R$, tengelymetszete, pedig $\Delta(\Delta S^\circ)/R$.

A királis kromatográfiában a van't Hoff ábrázolások gyakran eltérnek az egyenestől, ami a felület inhomogén jellegére utal és vegyes retenciós mechanizmust feltételez.^{4,5} Ráadásul egy királis molekula retenciója nemkirális és királis kölcsönhatások eredménye, melyek aránya jelentősen változhat a kromatográfiás körülményekkel.

Ha a $\Delta(\Delta H^\circ)$ és $\Delta(\Delta S^\circ)$ értéke negatív, a folyamat entalpiavezérelt, mint a legtöbb esetben. A másodikként eluálódó enantiomer stabilisabb komplexet képez a szelektorral, mint az elsőként eluálódó, kedvezőtlen entrópiátagot eredményezve. Az elválasztási tényező csökken a hőmérséklet emelkedésével. Ha az elválasztás hőmérséklete eléri azt a pontot (T_{iso}) ahol az entalpia tagot az entrópia tag kiegyenlíti, ezen a hőmérsékleten $\alpha = 1,0$, azaz a két enantiomer együtt eluálódik. T_{iso} számítható az $\ln k$ vs $1/T$ egyenesekből. A T_{iso} hőmérséklet felett a folyamat entrópiavezérelt és fordított elúciós sorrend figyelhető meg. Az elválasztási faktor növekszik a hőmérséklet emelkedésével, együtt a kolonna hatékonyságának növekedésével. Ez a két kedvező hatás teszi az entrópiavezérelt elválasztásokat különlegessé.

A T_{iso} hőmérséklet létét elsőként Koppenhoefer and Bayer valószínűsítette.⁶ Az első közvetlen kísérleti bizonyíték Gil-Av és mtsai.⁷ valamint Schurig és mtsai.⁸ gázkromatográfiás munkáiból ismert.

A folyadékkromatográfiában alkalmazható szűk hőmérséklet tartomány miatt az entrópiavezérelt királis elválasztás és az elúciós sorrend változása a hőmérséklettel csak ritkán figyelhető meg. Az elúciós sorrend változása mellett alapvonalra történő elválasztás kis és nagy hőmérsékleten



3. Ábra. Az aminonaftol enantiomerek szerkezete: **(1)** 1- $\{N-(1\text{-fenilmetil})[1\text{-fenil(aminometil)}]\}$ -naftalin-2-ol; **(2)** 1- $\{N-(1\text{-naftilmetil})[1\text{-fenil(aminometil)}]\}$ -naftalin-2-ol; **(3)** 1- $\{N-(1\text{-piridin-2-ilmetil})[1\text{-fenil(aminometil)}]\}$ -naftalin-2-ol; **(4)** 1- $\{N-(1\text{-piridin-3-ilmetil})[1\text{-fenil(aminometil)}]\}$ -naftalin-2-ol; **(5)** 1- $\{N-(1\text{-piridin-4-ilmetil})[1\text{-fenil(aminometil)}]\}$ -naftalin-2-ol.

szintén ritkán volt észlelhető. Egyedül Fulde és Frahm⁹ szotalol enantiomerek elválasztása esetén Cellubiohydrolase-I-típusú kolonnán figyeltek meg alapvonalra történő ($R_s > 1,5$) elválasztást mind kis mind nagy hőmérsékleteken.

Yao és mtsai¹⁰ tapasztalata szerint az izo-enantioszelektív hőmérséklet (T_{iso}) környékén nem mindig sikerül elválasztani az enantiomer vegyületpárt. A szerzők ezt úgynevezett „hőmérséklet indukált láthatatlan régió”-nak nevezték („temperature-induced blind zone”) mely néhány tíz fok hőmérséklet tartományra terjed ki.

4. A hőmérséklet hatása az aminonaftol enantiomerek királis kromatográfiás elválasztására

A vizsgált öt aminonaftol analóg szerkezeti képletét a 3. ábrán tüntettük fel. Ezek az anyagok két kiralitáscentrumot tartalmaznak, így a következő konfigurációjú sztereoizomerek léteznek: 1*S*,1'*S* (a)–1*R*,1'*R* (b) és 1*R*,1'*S* (c)–1*S*,1'*R* (d). A Cahn-Ingold-Prelog szabály következtében a 3 vegyület konfigurációja a nitrogén *ortho* helyzete miatt megváltozik: 1*R*,1'*S* (a)–1*S*,1'*R* (b); 1*S*,1'*S* (c)–1*R*,1'*R* (d). Az 1*S*,1'*S* és 1*R*,1'*R* valamint az 1*S*,1'*R* és 1*R*,1'*S* konfigurációk enantiomer viszonyban, míg a konfigurációk többi párosításában ezek a sztereoizomerek diasztereomer viszonyban állnak egymással. A diasztereomerek elvileg akirális környezetben is elválaszthatóak, viszont a fent említett enantiomer párok elválasztásához feltétlenül királis környezet szükséges.

A hőmérséklet kromatográfiás paraméterekre gyakorolt hatását Lux Cellulose-1 oszlopon vizsgáltuk, mind az öt aminonaftol analóg esetén 5 °C – 40 °C tartományban, a 2c-2d enantiomerpár esetén -5 °C – 80 °C hőmérséklet tartományban is (1. Táblázat).

Egy adott eluens összetételénél - heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v) - a hőmérséklet emelkedésével a retenció

faktor minden általunk vizsgált anyagnál csökkent. Ez annak tulajdonítható, hogy nagyobb hőmérsékleten a rendszer belső energiája nagyobb, ezáltal a vegyületek hőmozgása nő, így könnyebben legyőzik az állófázissal kialakított kölcsönhatásokat. A szelektivitás illetve felbontás a hőmérséklet emelkedésével a retenciósfaktorral párhuzamosan csökkent

A heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v) eluens összetételénél kivételt képezett a 2c-2d analóg, melyre -5°C – 15°C tartományban a szelektivitás és felbontás először csökkent, majd 70 °C után kismértékben nőtt a hőmérséklet emelkedésével (1. Táblázat).

Az elválasztást kísérő standard entalpia, standard entrópia és standard szabadentalpia változás értékeit a van't Hoff egyenlet segítségével grafikus úton határoztuk meg, ahol a $-\Delta H^\circ/R$ az egyenes meredekségével, míg a $\Delta S^\circ/R + \ln \phi$ a tengelymetszettel egyezik meg. A hőmérsékletfüggésből számolt termodinamikai adatokat a 2. Táblázatban foglaltuk össze. A ΔH° és ΔS° ($\Delta S^\circ = \Delta S^\circ + R \ln \phi$) értékek minden vegyületnél negatívnak adódtak.

A kialakuló kölcsönhatások standard entalpiaváltozás szempontjából kedvezményezettek, de a standard entrópiaváltozás szempontjából már nem. A negatív standard entrópia a rendezettség növekedését fejezi ki (a molekula több ponton kötődik az állófázishoz) de ezt a standard entalpiaváltozás mértéke meghaladta, így a standard szabadentalpia változás is negatívnak adódott (kivétel a 3c-3d enantiomerjei, ahol nem tapasztaltunk elválást).

A 2. Táblázat adatai alapján a másodikként eluálódott enantiomer esetében a ΔH° értékek negatívabbak, mint az elsőként eluálódott enantiomeré, azaz a másodikként eluálódó komponens kölcsönhatása az állófázissal energetikailag kedvezőbb. Az entrópia értékeket tekintve a nagyobb $-\Delta S^\circ$ értékek azt jelentik, hogy a jobban

visszatartott enantiomer jóval stabilabb átmeneti komplexet képez az állófázissal, mozgásában erősebben korlátozott.

1. Táblázat. Az elsőként eluálódó enantiomer retenciós faktora (k_I'), az elválasztási tényező (α) és a felbontás (R_s) változása aminonafтол analógok esetén különböző hőmérsékleten

Minta	Eluens	k_I', α, R_s	Hőmérséklet (°C)					
			5	10	15	20	30	40
1a,1b	a	k_I'	1,22	1,10	1,04	0,95	0,78	0,66
		α	1,39	1,32	1,27	1,25	1,17	1,12
		R_s	3,43	2,73	2,48	2,25	1,33	0,99
1c,1d	a	k_I'	1,48	1,33	1,23	1,10	0,92	0,74
		α	1,29	1,28	1,27	1,26	1,24	1,23
		R_s	2,86	2,79	2,77	2,26	2,21	2,14
2a,2b	a	k_I'	2,69	2,23	2,09	1,77	1,50	1,23
		α	1,76	1,68	1,65	1,54	1,52	1,41
		R_s	5,14	5,12	4,97	4,70	4,49	4,08
2c,2d	a	k_I'	1,51	1,33	1,17	1,16	0,98	0,82
		α	1,12	1,06	1,00	1,00	1,00	1,00
		R_s	1,54	0,78	0,00	0,00	0,00	0,00
2c,2d	b	k_I'	2,89	2,48	-	2,23	1,99	1,70
		α	1,09	1,08	-	1,00	1,03	1,09
		R_s	1,16	0,93	-	0,00	0,60	1,18
3a,3b	a	k_I'	0,81	0,75	0,68	0,63	0,54	0,47
		α	1,22	1,20	1,18	1,17	1,15	1,13
		R_s	1,88	1,49	1,38	1,24	1,00	0,84
3c,3d	a	k_I'	1,61	1,43	1,27	1,16	0,98	0,82
		α	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
		R_s	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4a,4b	a	k_I'	3,50	3,30	3,13	2,91	2,52	2,16
		α	2,07	1,99	1,93	1,85	1,74	1,65
		R_s	7,66	7,64	7,61	7,58	7,53	7,35
4c,4d	a	k_I'	6,16	5,62	5,15	4,65	3,84	3,17
		α	1,40	1,37	1,35	1,32	1,27	1,23
		R_s	4,11	4,08	4,05	3,96	3,84	3,33
5a,5b	a	k_I'	8,06	7,50	6,95	6,57	5,45	4,78
		α	1,17	1,16	1,15	1,13	1,11	1,09
		R_s	1,79	1,76	1,74	1,67	1,64	1,06
5c,5d	a	k_I'	8,92	8,28	7,48	6,82	5,92	5,01
		α	1,88	1,83	1,79	1,75	1,69	1,60
		R_s	9,66	7,66	7,10	7,04	7,00	6,60

Kolonna, Lux Cellulose-1; Eluens, **a**, heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v), **b**, heptán/2-PrOH/DEA=98/2/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 mL/perc; detektálás 230 nm.

1. Táblázat. (folytatás) Az elsőként eluálódó enantiomer retenciós faktora (k_I'), az elválasztási tényező (α) és a felbontás (R_s) változása aminonafтол analógok esetén különböző hőmérsékleten

Minta	Eluens	k_I', α, R_s	Hőmérséklet (°C)					
			-5	0	50	60	70	80
2c,2d	a	k_I'	1,80	1,67	0,69	0,60	0,50	0,43
		α	1,16	1,15	1,00	1,00	1,05	1,12
		R_s	1,75	1,60	0,00	0,00	0,37	0,44
2c,2d	b	k_I'	-	2,97	1,47	-	-	-
		α	-	1,13	1,15	-	-	-
		R_s	-	1,90	1,90	-	-	-

Kolonna, Lux Cellulose-1; Eluens, **a**, heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v), **b**, heptán/2-PrOH/DEA=98/2/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 mL/perc; detektálás 230 nm

A két enantiomerre vonatkozó entalpia- és entrópiaváltozás különbségeket tekintve, a 4a-4b kölcsönhatása a Lux Cellulose-1 állófázissal a legnagyobb $-\Delta(\Delta H^\circ)$ értéket eredményezte, míg 1c-1d enantiomerpárra a legkisebb $-\Delta(\Delta H^\circ)$ adódott. A $-\Delta(\Delta S^\circ)$ értéke a 2a-2b és 4a-4b analógok esetén volt a legnagyobb (2. Táblázat). A $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékét nagyrészt az állófázishoz kötött két enantiomerre vonatkozó szabadsági fokok különbsége valamint az állófázishoz való kötődés során felszabaduló oldószer molekulák száma határozza meg.

A $-\Delta(\Delta G^\circ)_{298}$ értéke azt sugallja (2. Táblázat), hogy a 2a-2b (naftilgyűrűt tartalmazó analóg) és a 4a-4b és az 5c-5d analógok (piridil-csoportot tartalmazó enantiomerpár ahol a N-atom 3 vagy 4 helyzetben van) igen hatékonyan kötődnek a szelektorhoz.

A heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v) eluens összetétel-nél a 2. Táblázat adatai alapján számoltuk a T_{iso} hőmérsékletet, ahol az enantioszelektivitás megszűnik és az elúciós sorrend megfordul. A legtöbb esetben a T_{iso} hőmérséklet jóval meghaladta a szobahőmérsékletet; entalpiavezérelt elválasztást tapasztalunk. A 2c-2d enantiomerpárra a T_{iso} hőmérséklet 38 °C (4.A. ábra, 2. Táblázat). -5 °C-tól kezdődően α csökkent a hőmérséklet emelésével majd a T_{iso} hőmérséklet közelében, egy tartományban elválasztást nem tapasztaltunk.

Tovább emelve a hőmérsékletet azonban α újra nőtt. A 2c-2d aminonafтол analóg esetében heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v) eluens összetétel-nél ez a tartomány 20 °C és 60 °C között volt (4.A. ábra).

Ha megnézzük a 2. Táblázatban szereplő $\Delta(\Delta H^\circ)$ és $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékeket, láthatjuk, hogy negatívak, vagyis az elválasztásoknál az entalpiaváltozás dominál. A 2c-2d analóg esetén azonban a T_{iso} hőmérséklet alatt negatív, a T_{iso} hőmérséklet felett pedig pozitív értékeket kapunk. Ha elérjük a T_{ison} hőmérsékletet az entalpia hozzájárulást az entrópia változása kompenzálja. Ekkor az $\alpha=1$ tehát a két enantiomer nem választható el. A T_{iso} hőmérséklet feletti tartományban azonban a folyamatot az entrópiaváltozás határozza meg, az enantiomerek újra elválaszthatóak, az elúciós sorrend pedig megfordul. Ezt a jelenséget mutatja az 5.A. ábra.

2. Táblázat. Termodinamikai paraméterek, ΔH° , ΔS° , $\Delta(\Delta H^\circ)$, $\Delta(\Delta S^\circ)$, $\Delta(\Delta G^\circ)$, korrelációs koeficiens (R^2) és T_{iso} hőmérsékletértékei Lux Cellulose-1 kolonnán.

Minta	Eluens	Sztereo-izomer	$-\Delta H^\circ$ (kJ mol ⁻¹)	$-\Delta S^\circ$ (J mol ⁻¹ K ⁻¹)	Korr. koef. (R^2)	$-\Delta(\Delta H^\circ)$ (kJ mol ⁻¹)	$-\Delta(\Delta S^\circ)$ (J mol ⁻¹ K ⁻¹)	$-\Delta(\Delta G^\circ)_{298K}$ (kJ mol ⁻¹)	T_{iso} (°C)
1	a	b(1)	14,0	48,2	0,9955	3,0	8,7	0,5	80
		a(2)	17,0	56,9	0,9991				
	a	c(1)	14,1	47,2	0,9961	1,0	1,6	0,5	373
		d(2)	15,1	48,8	0,9966				
2	a	a(1)	15,6	48,1	0,9911	4,3	11,0	1,0	121
		b(2)	20,0	59,1	0,9904				
	a	c(1)*	12,6*	41,8*	0,9970	2,0*/-2,0**	6,5*/-6,5**	>0,2* (273K) 0,1** (323K)	38
		d(2)*	14,6*	48,3*	0,9997				
	b	c(1)*	8,1*	20,8*	0,9908	3,7*/-3,7**	12,7*/-12,7**	>0,2* (273K) 0,4** (323K)	22
		d(2)*	11,8*	33,5*	0,9965				
3	a	b(1)	11,4	42,8	0,9997	1,6	4,0	0,4	117
		a(2)	13,0	46,8	0,9995				
	a	c(1)	13,8	45,8	0,9988	-	-	-	-
		d(2)	13,8	45,8	0,9988				
4	a	b(1)	10,0	25,4	0,9980	4,7	10,8	1,5	160
		a(2)	14,7	36,3	0,9987				
	a	c(1)	13,8	34,3	0,9903	2,8	7,2	0,7	114
		d(2)	16,6	41,5	0,9964				
5	a	b(1)	11,0	22,0	0,9947	1,5	4,1	0,3	93
		a(2)	12,5	26,1	0,9963				
	a	d(1)	12,0	24,7	0,9983	3,2	6,1	1,4	244
		c(2)	15,1	30,8	0,9984				

Kolonna, Lux Cellulose-1; mozgófázis, **a**, heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v), **b**, heptán/2-PrOH /DEA=98/2/0,1 (v/v/v); (1) és (2), elsőként és másodikként eluálódó enantiomer; áramlási sebesség, 0,5 mL/perc; detektálás 230 nm; $\Delta S^\circ = \Delta S^\circ + R \ln \Phi$ ahol Φ a fázisarány; R^2 , $\ln k' - 1/T$ függvény korrelációs koeficiense. A vizsgált hőmérséklettartomány: 5 °C - 40 °C; **2c-d** esetén: -5 °C - 80 °C; * T_{iso} hőmérséklet alatt; ** T_{iso} hőmérséklet felett.

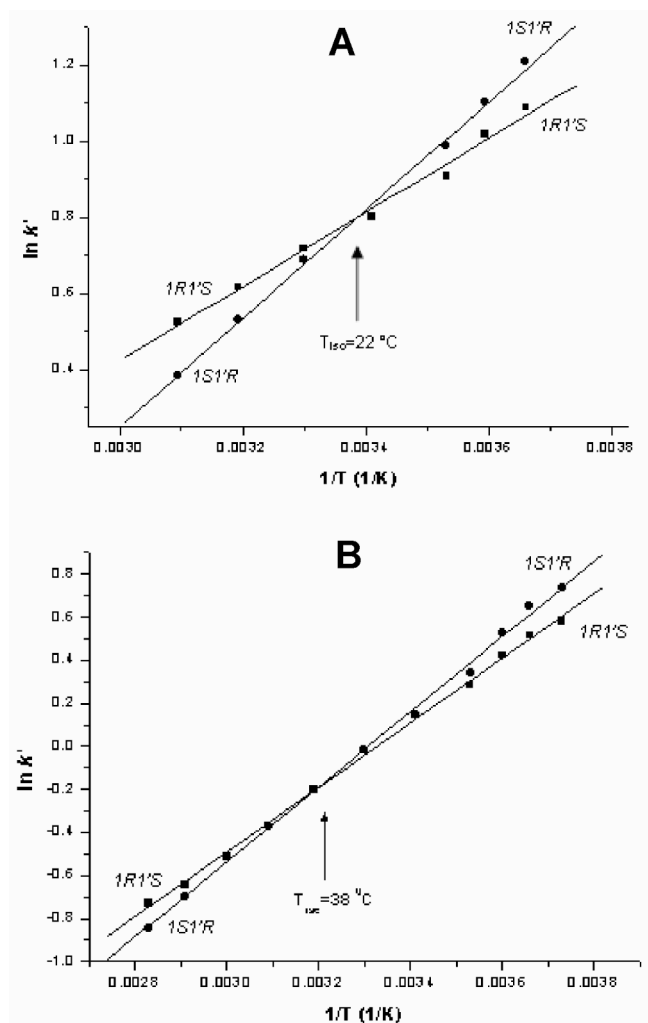
Az 4.A. ábrán és a 4. Táblázatban bemutatott adatok alapján az említett enantiomerek a vizsgált hőmérséklet tartományban kis felbontással, rövid időkülönbséggel eluálódtak, így a retenciók idői szórásából adódóan az elúciós sorrend egyértelmű meghatározása is kétséges. Heptán/2-PrOH/DEA=98/2/0,1 (v/v/v) eluens összetételénél különböző hőmérsékleteken megismételve a 2c-2d enantiomerpár elválasztását mind kis, mind nagy hőmérsékleten a szelektivitás (és felbontás) jelentősen javult és a „hőmérséklet indukált láthatatlan régió” jelentősen szűkült (4.B. ábra). A racém mintához 2c enantiomert keverve a csúcsterületek arányából egyértelműen bizonyítható volt az elúciós sorrend változása a T_{iso} hőmérséklet környezetében. A heptán/2-PrOH/DEA=98/2/0,1 (v/v/v) eluens összetételénél kivitelezett mérésekkel újabb példán bizonyítottuk, hogy lehetséges az enantiomerek alapvonalra történő elválasztása mind az enantialpia-, mind az entrópiavezérelt hőmérséklet

tartományban. Ezen mérésekhez tartozó kromatogramokat a 5. ábrán mutatjuk be.

Összegezve az eredményeket kijelenthető, hogy az intermolekuláris kölcsönhatások kialakulása az állófázis és a mintavegyületek között energia felszabadulásával jár, ezek a kölcsönhatások általában exotermek, és a megfelelő entrópiaváltozások – bizonyos eseteket kivéve - negatívak.

Köszönetnyilvánítás

A. A. köszönetét fejezi ki Fülöp Ferenc akadémikusnak és Szatmári Istvánnak (SZTE, Gyógyszerkémiai Intézet) a minták rendelkezésünkre bocsátásáért, valamint a GenLab kft-nek (Phenomenex, Torrance, USA) a Lux királis kolonnáért. A munka a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0052 támogatásával készült.



4. Ábra. A 2 aminonaftol analóg c-d enantiomerjeinek $\ln k'$ értékei $1/T$ függvényében; Kolonna, Lux Cellulose-1; eluens, A, heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v), B, heptán/2-PrOH/DEA=98/2/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 mL/perc; detektálás 230 nm.

Hivatkozások

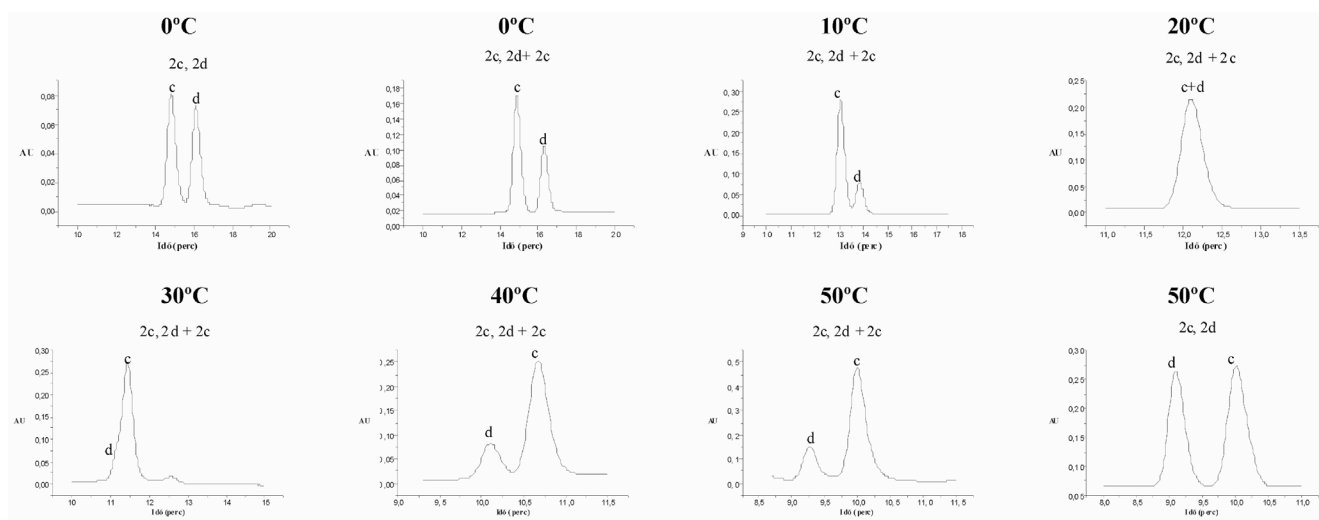
- Hollósi, M. Laczkó, I. Majer, Zs. *A sztereokémia és kiroptikai spektroszkópia alapjai*, Nemzeti Tankönyvkiadó Rt: Budapest, **2004**.
- Fekete, J. *Folyadékromatográfia*, Jáva-98 Kft: Budapest, **2003**.
- Piette, V., Lammerhofer, M., Lindner, W., Crommen, J. *J. Chromatogr. A* **2003**, 987, 421-427.
- Fornstedt, T., Sajonz, P., Guichon, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 1254-1264.
- Fornstedt, T., Sajonz, P., Guichon, G. *Chirality* **1998**, 10, 375-381.
- Koppenhoefer, B., Bayer, E., *Chromatographia* **1984**, 19, 123-130.
- Watabe, K., Charles, R., Gil-Av, E. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, 28, 192-194.
- Schurig, V., Betschinger, F. *Chem. Rev.* **1992**, 92, 873-888.
- Fulde, K., Frahm, A.W. *J. Chromatogr. A* **1999**, 858, 33-43.
- Yao, B.; Zhan, F.; Yu, G.; Chen, Z.; Fan, W.; Zeng, X.; Zeng, Q.; Weng, W. *J. Chromatogr. A* **2009**, 1216, 5429-5435.

Aminonaphthol enantioseparation by high performance liquid chromatography: The effect of temperature on chiral separation

1. Introduction

The separation of enantiomers of chiral compounds by chromatography methods and related techniques is one of the most important tasks in modern analytical chemistry, especially in the analysis of compounds of biological and pharmaceutical interest.

On a molecular level of living organisms, chirality is an important property of the building blocks of life, such as amino acids and sugars, and therefore peptides, and proteins. In biological systems, these biomolecules exist in only one of the possible enantiomeric forms and display different responses to one of a pair of enantiomers of drugs, agrochemicals, food additives, fragrances, etc. Accordingly chirality is also a major concern in the pharmaceutical industry. When the enantiomers of a drug are administered into a chiral selective living system, these enantiomers often exhibit



5. Ábra. A hőmérséklet hatására bekövetkező elúciós csere; Kolonna: Lux Cellulose-1, eluens, heptán/2-PrOH/DEA=98/2/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 mL/perc; detektálás, 230 nm; hőmérséklet, 0-50°C.

differences in distribution, metabolic and excretion behavior, and action. The differences in biological properties of enantiomers arise from the differences in protein transport and binding, the kinetics of their metabolism and their stability in the environment.

As a result, the pharmaceutical industry has raised its emphasis on the generation of enantiomerically pure compounds in the search for safer and more effective drugs. The US Food and Drug Administration (FDA) has required evaluation of each enantiomer in the development of stereoisomeric drugs.

There are several possibilities for the preparation of pure enantiomers, e.g. using enantioselective synthetic routes or the separation of enantiomers after the preparation of racemic mixtures. The chromatographic processes play an important part not only in the production of the enantiomers, but also in the quality control of the chiral products.

The present paper describes normal-phase HPLC methods for the enantioseparation of new racemic 1-(phenylethylamino)methyl-2-naphthol or 1-(naphthylethylamino)methyl-2-naphthol analogs possessing two chiral centers (Fig. 4). These HPLC methods rely on the use of recently commercialized polysaccharide-based chiral CSP: *tris*-(3,5-dimethylphenyl)-carbamoylated cellulose (Lux Cellulose-1).

In chromatographic enantioseparations, the van't Hoff plot shows the relationship between the chromatographic data and the column temperature. This relationship is useful in order to study the retention mechanism.

The van't Hoff plots often deviate from linearity, possibly as a result of the inhomogeneity of the CSP surface, leading to a mixed retention mechanism. Additionally, there are both achiral and chiral contributions to retention that can vary with a wide variety of experimental parameters.

If $\Delta(\Delta H)^\circ$ and $\Delta(\Delta S)^\circ$ values are both negative, the enantioseparation is enthalpically driven, as in the common case. The second-eluted enantiomer forms a more stable complex with the selector than does the first-eluted enantiomer, with a more unfavorable entropy for enantioseparation. The separation factor decreases with increasing temperature. When the column temperature reaches a point referred to as the enantioselective temperature (T_{iso}), the enthalpy contribution is wholly compensated by the entropy term. At this point $\alpha = 1.0$, and the two enantiomers coelute. T_{iso} can be calculated from $\ln k$ vs $1/T$ curves. Above T_{iso} , the enantioseparation is entropically driven, and a reversal of the elution sequence for a pair of enantiomers is observed. The separation factor increases with increasing temperature in this domain, and the column

efficiency increases concurrently. These two features make entropically driven enantioseparation especially attractive.

2. Results

In order to investigate the effects of temperature on the chromatographic parameters, a variable-temperature study was carried out Lux Cellulose-1 column, usually over the temperature range 5–40 °C (Table 1).

A comparison of the retention factors in Table 1 reveals that all of the recorded values decreased with increasing temperature (similar tendencies were measured at other mobile phase compositions). In most cases an increase of the separation temperature lowered the separation factor, α , and the resolution, R_s , while for 1a,1b and 2c,2d at high temperature increase, in α and R_s were observed.

The second-eluting enantiomers have more negative ΔS° values, and it is likely that they have fewer degrees of freedom on the CSP, i.e. they are held at more points or are less able to move or rotate. It is widely accepted that both enantiomers undergo the same nonspecific interactions, whereas the more strongly retained one is subject to additional stereospecific interactions.

The differences in the changes in enthalpy and entropy, $\Delta(\Delta H)^\circ$ and $\Delta(\Delta S)^\circ$, are presented in Table 2. The interactions of 4a,4b on the Lux Cellulose-1 were characterized by the highest negative $\Delta(\Delta H)^\circ$ value, while 1c,1d exhibited the least negative $\Delta(\Delta H)^\circ$.

The data were used to calculate the temperature, T_{iso} , at which the enantioselectivity balanced out and the elution sequence changed (Table 2). In most cases, T_{iso} was considerably higher than room temperature; enthalpically driven enantioseparation was obtained. For 2c,2d, T_{iso} was 38 °C (Fig. 4). From -5 °C, α decreased with increasing temperature; then after a domain where no separation occurred, α increased with increasing temperature (Table 2). In a domain around the isoenantioselective temperature, enantioseparation could not be obtained. This domain may be referred to as a "temperature-induced blind zone" in chiral recognition¹⁰. A "temperature-induced blind zone" was similarly observed for 1a,1b in the temperature range 60–90 °C (Table 2). The essence of this phenomenon is enthalpy-entropy compensation. Outside the blind zone, enthalpically- or entropically-driven enantioseparation can be observed. Farther away from the blind zone, better molecular recognition should be obtained and the elution sequence also changes, as can be seen in the case of 2c,2d with change of the column temperature (Fig. 5).

The elution sequence was determined in all cases, but no general rule could be found.

Polipirrol/magnetit kompozit vékonyrétegek szintézise és elektrokatalitikus tulajdonságaik jellemzése

ENDRŐDI Balázs,* KORMÁNYOS Attila, BENCSIK Gábor, PEINTLER-KRIVÁN Emese, JANÁKY Csaba és VISY Csaba

Szegedi Tudományegyetem, Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék, Rerrich Béla tér 1., 6720, Szeged, Magyarország

1. Bevezetés

A vezető polimerek 1970-es évek végén történt újkori-felfedezésüket követően hamar a tudományos és ipari érdeklődés középpontjába kerültek. Kedvező tulajdonságaiknak – így olcsó előállításuknak, fizikai és kémiai ellenálló képességüknek, valamint nagymértékben, reverzibilisen változtatható optikai és elektromos tulajdonságaiknak – köszönhetően számos alkalmazási területen indult meg kutatási és fejlesztési tevékenység. Napjainkra szerves fényemittáló diódák (OLED), napelemek, termoelektromos modulok, korrózió ellen védő bevonatok vagy akár mesterséges orrok aktív komponenseként is találkozhatunk velük.¹⁻⁵

Nanométeres méretű részecskékké váló „ötvözással” vezető polimer alapú nanokompozitokat állíthatunk elő. Ezáltal olyan összetett anyagokat hozhatunk létre, amelyeket elektródként alkalmazva szelektív válaszelet kaphatunk bizonyos komponensekre, így alkalmasak lehetnek elektrokémiai szenzorokként. A kompozit tulajdonsága nagyban függ mind a polimer jellegétől, mind pedig a beépülő nanorészecske fizikai és kémiai tulajdonságaitól.⁶

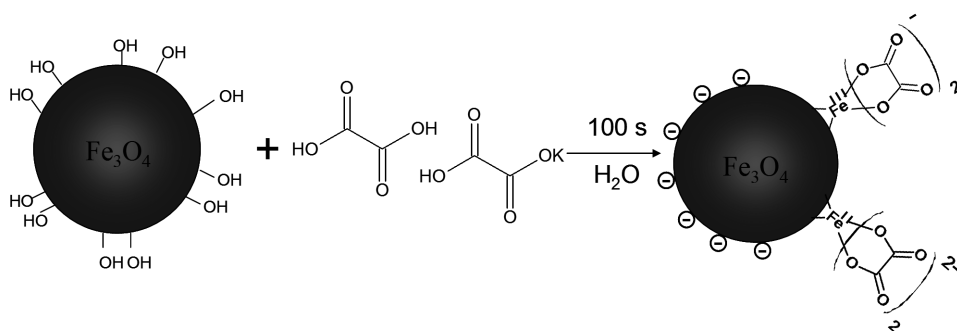
Elektroaktív, mágneses nanorészecskék vezető polimer mátrixba építésével olyan hibrid anyagokat hozhatunk létre, melyek mindkét komponens tulajdonságait magukban

hordozzák, ezáltal alkalmasak lehetnek többek között mágneses árnyékoló vagy mikrohullámot elnyelő bevonatok kialakítására.⁷ Ezen felül a redoxi aktív fémcentrumokat tartalmazó nanorészecskék, így például magnetit (Fe_3O_4) beépítése, nagyban hozzájárul a kompozit katalitikus tulajdonságaihoz.⁸⁻¹⁰ A kompozitban új tulajdonságok megjelenése, valamint a meglévő tulajdonságok felerősödése is várható (szinergia).

Munkánk során célul tűztük ki vezető polimer – magnetit nanonokompozit vékonyrétegek elektrokémiai szintézisét, valamint analitikai alkalmazhatóságuk vizsgálatát.

2. Eredmények és értékelésük

Magnetit nanorészecskéket tartalmazó vezető polimer kompozit vékonyrétegeket legegyszerűbben az elektroaktív monomerek magnetit szolban történő elektropolimerizációja révén alakíthatunk ki. Ekkor azonban – specifikus hajtóerő híján – kis mennyiségű nanorészecske épül a polimerbe, ami nem növeli jelentősen a polimer katalitikus folyamatokban mutatott aktivitását. Így munkánk kezdetét egy olyan szintézismódszer kidolgozása jelentette, mely segítségével nagy mennyiségű magnetitet építhetünk be polipirrol mátrixba.

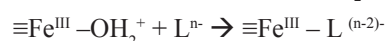
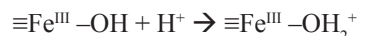


1. Ábra. A magnetit nanorészecskék felületének módosítása kálium-tetraoxalátos kezeléssel.

2.1. Magnetit nanorészecskék felületmódosítása és beépítése polipirrol mátrixba

A szakirodalomból ismert tény, hogy a savas oxalátok az ásványi oxidokat – így a magnetitet is – feloldják.^{11,12} Az oldódás során vas(II)-, vas(III)-, valamint vegyes vas(II)vas(III)-oxalát képződik, annak megfelelően, hogy a kétféle oxidációs állapot egyaránt jelen van a magnetitben.

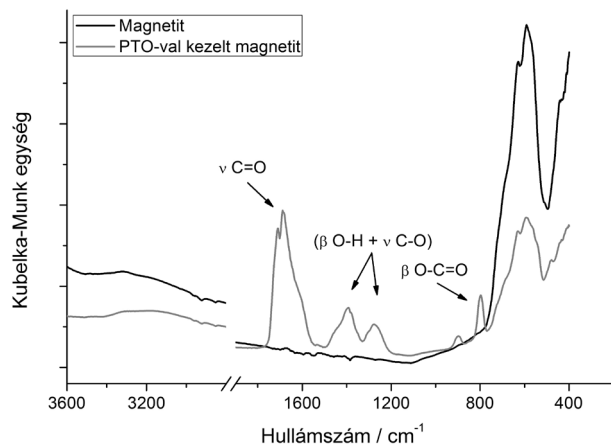
A fenti folyamat kezdetben a nanorészecskék felszínén megy végbe. Első lépésként a felületi hidroxil-csoportok protonálódnak, ami elősegíti a második lépést, az oxalát-ionok felületi megkötődését:



Ezt követi a nanorészecskék teljes oldódása, vas(III)- illetve vas(II)-oxalát formájában. Ha azonban a kezelést

* Tel.: (62) 544-111 ; fax: (62) 546-482 ; e-mail: endrodib@chem.u-szeged.hu

rövid ideig alkalmazzuk, a magnetit felülete oxalát-csoportokkal módosítható, ami negatív töltést kölcsönöz a nanorészecskéknek.



2. Ábra. A magnetit infravörös spektruma kálium-tetraoxalátos kezelés előtt és után.

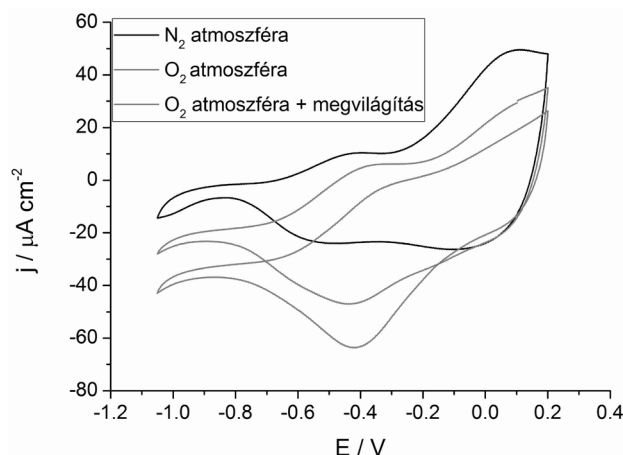
A fenti folyamat lejátszódását infravörös spektroszkópiás vizsgálatokkal bizonyítottuk. Ahogy a 2. ábrán látható, a polymerizációs körülményeket modellező, 100 másodperces kálium-tetraoxalátos (PTO) kezelés hatására a magnetit spektruma jelentős mértékben megváltozik. A megjelenő új csúcsok egyértelműen a felületen kialakuló oxalát-csoportokhoz rendelhetők.

A polipirrol/magnetit kompozit vékonyrétegeket galvanostatisztikus elektrokémiai polymerizációval állítottuk elő platina elektródon 0,1 M pirrol monomert, 0,05 M PTO vezetősót és 10 g/dm³ magnetitet tartalmazó vizes oldatokból, 3 mA/cm² áramsűrűséggel, 100 másodpercig. Ennek során az oxidált állapotban képződő polipirrol vékonyrétegben a jelen lévő negatív felületi töltésű magnetit részecskék a töltéskompenzációs folyamatok részeként feldúsulnak.¹³ Elektrokémiai kvarckristály nanomérleg technikával végrehajtott méréseink szerint az így készült kompozitok kiemelkedő mennyiségű, mintegy 25 m/m% magnetitet tartalmaznak.

2.2. Magnetit tartalmú vezető polimer kompozitok viselkedése az elektrokémiai oxigénredukciós reakcióban

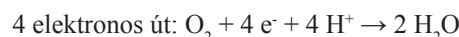
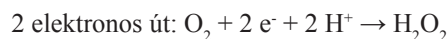
Kutatócsoportunk korábbi eredményei rámutattak, hogy a különböző, vastartalmú komponensek beépítése megnöveli a polimer oxigén redukciós reakcióban mutatott önmagában is jelentős katalitikus aktivitását.^{14,15} Ezt alapul véve, a magnetit tartalmú hibridek elektrokatalitikus sajátosságait is ebben a folyamatban kezdtük vizsgálni.

A polimer redoxi átalakításából eredő háttéráram elkülönítésére ciklikus voltammogramokat rögzítettünk oxigénmentes (nitrogénnel öblített), illetve oxigénnel telített oldatban. Ahogy a 3. ábrán látható, oxigénmentes körülmények között az oxidációs és redukciós töltések azonosak, oxigénnel telített oldatban nagy redukciós töltéstöbbletet tapasztalunk. Fontos tapasztalat volt továbbá, hogy az elektródot fehér fénnel megvilágítva a katalitikus aktivitás tovább fokozható.



3. Ábra. A polipirrol/magnetit vékonyréteg ciklikus voltammogramjai foszfát-pufferben (pH=7, c=100mM), 25 mV/s pásztázási sebesség mellett.

A sötétben, illetve megvilágítás mellett mért redukciós töltések közötti lényeges eltérést legegyszerűbben a folyamat eltérő mechanizmusával magyarázhatnánk. Jól ismert ugyanis, hogy a folyamat mind hidrogén-peroxid, mind víz terméket eredményezhet (2 és 4 elektronos út):



Ahogy az egyenletekből is jól látszik, a 4 elektronos reakcióút lejátszódása esetén nagyobb redukciós töltéseket regisztrálhatunk, a végtermék pedig víz lesz.

Ezzel szemben független analitikai módszerekkel kimutattuk, hogy megvilágítás esetén nagyobb mennyiségű hidrogén-peroxid keletkezik. Így a megvilágítás hatását nem az oxigén redukciós reakció mechanizmusának változásában, hanem éppen a képződő reaktív intermedier megvilágítás hatására történő fokozott termelésében, és annak elektrokémiai redukciójában kell keresnünk.¹⁶

2.3. Magnetit tartalmú vezető polimer alkalmazása hidrogén-peroxid koncentrációjának elektrokémiai meghatározására

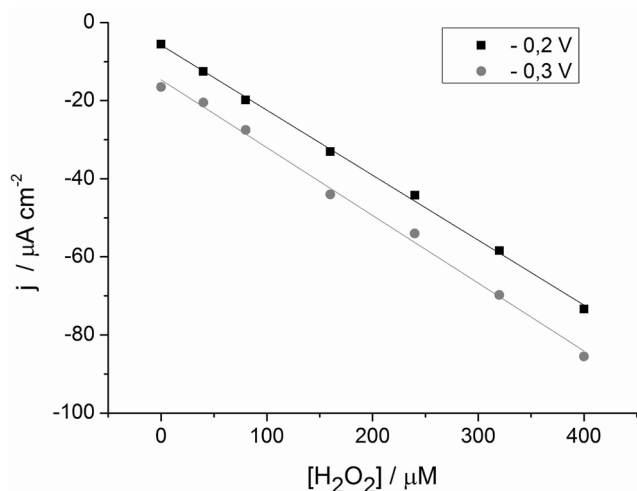
Megvilágítás hatására tehát nagyobb mennyiségű hidrogén-peroxid képződik, amit a gerjesztés során kialakuló fotoelektronok és a vízben oldott oxigén kölcsönhatásának tulajdoníthatunk. A regisztrált áram így (megfelelő potenciáltartományban) két elektrokémiai folyamatból tevődik össze:

- az oxigén elektrokémiai redukciója
- a képződő H₂O₂ elektrokémiai redukciója

Az utóbbi folyamat szerepét jól láthatjuk, ha elektrokémiai vizsgálatainkat hidrogén-peroxidot tartalmazó oldatban, oxigénmentes körülmények között végezzük.

A magnetit tartalmú elektródot vizsgálva megállapítható, hogy -0,1 V potenciálon (vs. Ag/AgCl/3M NaCl) megindul a hidrogén-peroxid redukciója. Ahogy a 3. ábrán megfigyelhető, az oldott oxigén redukciója is hasonló potenciálon kezdődik. Ennél negatívabb potenciálokra

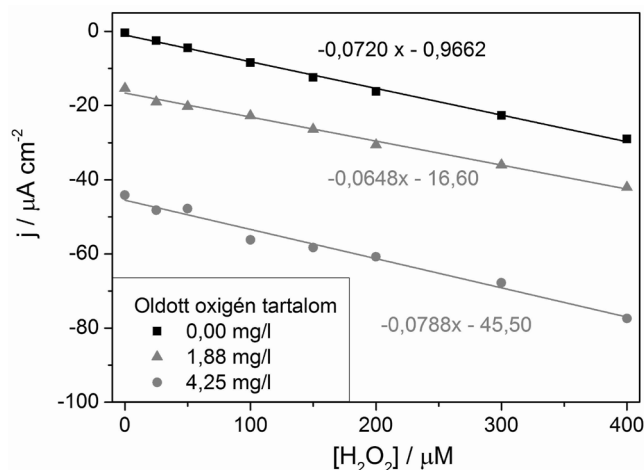
polarizálva az elektródot azon tehát minden esetben a két folyamat együttes lejátszódásával kell számolnunk.



4. Ábra. Polipirrol/magnetit elektród kalibrációja hidrogén-peroxida, oxigénmentes körülmények között.

A kompozit hidrogén-peroxid elektrokémiai redukciójában mutatott aktivitását tovább vizsgálva kronoamperometriás módszer segítségével elvégeztük az elektród kalibrációját. A 4. ábra alapján a növekvő analit koncentráció folyamatosan, lineárisan növekvő áramokhoz vezet.

Ugyanezt a kalibrációt elvégeztük különböző mennyiségű oldott oxigént tartalmazó oldatokban is. Az 5. ábrán jól látszik, hogy – mivel a két folyamat elektrokémiaiag nem különíthető el – a növekvő oxigén koncentráció egyre nagyobb háttéráramokat eredményez. A kalibrációs egyenesek meredekségére ez azonban nincs jelentős hatással. Így elmondható, hogy megfelelő kalibrációt követően (pl. standard addíciós kalibráció) a magnetit tartalmú polipirrol elektród alkalmas lehet hidrogén-peroxid koncentráció meghatározására akár oldott oxigén jelenlétében is.^{17,18}

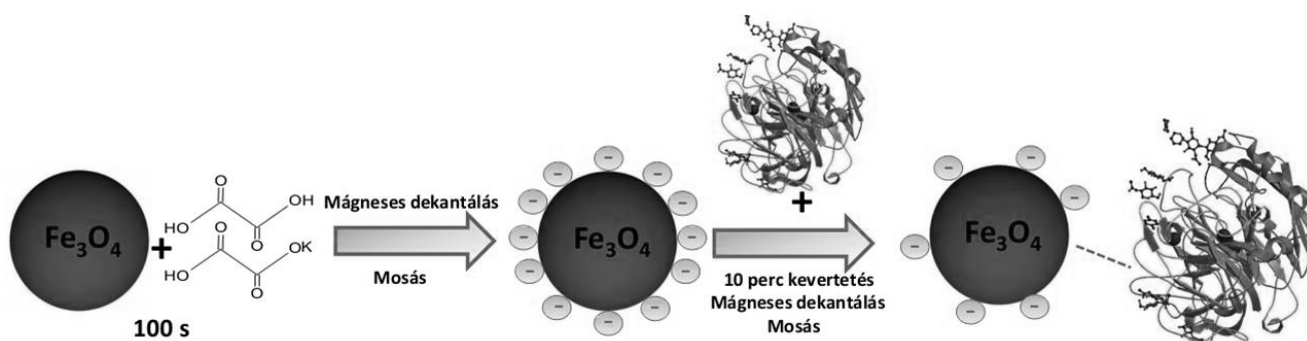


5. Ábra. Polipirrol/magnetit elektród kalibrációja hidrogén-peroxida, különböző mennyiségű oxigént tartalmazó oldatokban (E=-0,3 V).

2.4. Lakkáz enzim beépítése vezető polimer mátrixba magnetit nanorészecskék segítségével

Az oxigén redukciós reakciót katalizáló elektródok legfontosabb felhasználási területét a H₂-O₂ tüzelőanyag cellák jelentik. Egy ilyen cellában ugyanis – megfelelő anyagú anód és katód használatával – oly módon nyerhetünk energiát, hogy a végtermék környezetre ártalmatlan, tiszta víz lenne. Ehhez azonban szükség van olyan elektródokra, melyek biztosítják a folyamatok megfelelő sebességét (áramsűrűség) és a cellában kialakuló megfelelő potenciálkülönbséget.

A gyakorlati felhasználás legfőbb gátját napjainkban katód anyaga jelenti. Általános törekvés olyan elektródok előállítása, melyeken az oxigén redukció a lehető legpozitívabb potenciálon, a lehető legnagyobb sebességgel megy végbe. Ehhez egy lehetséges út olyan biomolekulák (enzimek) beépítése, melyek elősegítik az oxigén molekulák 4 elektronos redukcióját, valamint képesek az elektronokat



6. Ábra. A lakkáz enzim magnetit részecskék felületén való rögzítésének sematikus vázlata.

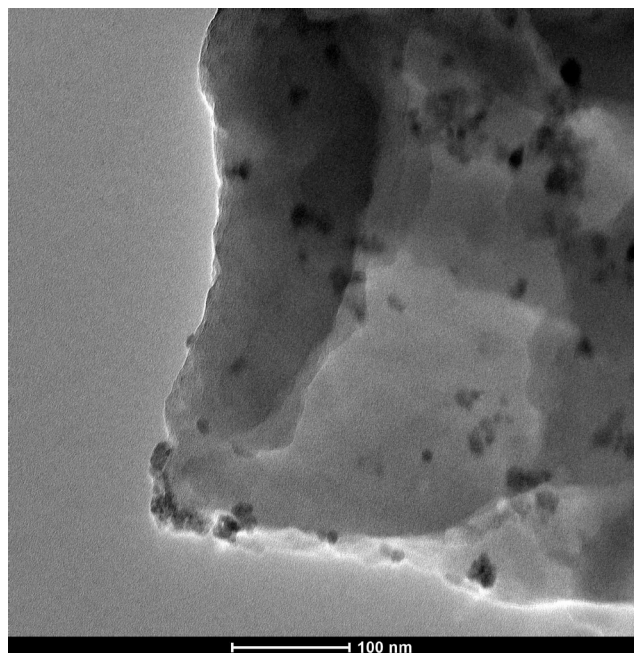
közvetlenül a rögzítő mátrixként használt polimernek átadni (ún. bio-tüzelőanyag cellák).

Munkánk során kidolgoztunk egy olyan módszert, mely segítségével sikeresen rögzítettünk lakkáz enzimet magnetit nanorészecskék felületén a következő két, gyors reakciólépésben (6. ábra):

- Oxalát funkció csoportok kialakítása a nanorészecskék felületén

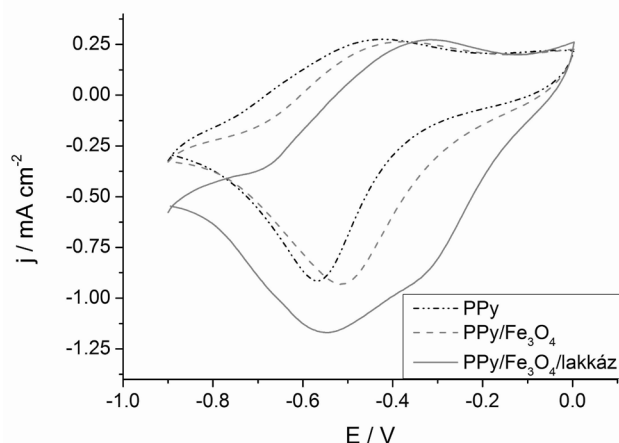
- Lakkáz enzim kémiai kölcsönhatása a módosított felületű magnetittel

Az így előállított, módosított nanorészecskéket sikerrel építettük be polipirrol mátrixba, melyet számos műszeres vizsgálati módszer segítségével bizonyítottunk. A kompozitról készített transzmissziós elektronmikroszkópos (TEM) felvételen (7. ábra) látható, hogy a polimer mátrixba nanorészecskék épültek be, melyek aggregációja nem jelentős.



7. Ábra. A polipirrol/magnetit/lakkáz.transzmissziós elektronmikroszkópos képe, 88000x-es nagyítás

Az enzim beépüléséről és aktivitásának megőrződéséről ciklikus voltammetria segítségével szereztünk bizonyítékot. A biomolekulát is tartalmazó réteg voltammetriás viselkedését összehasonlítva a polimerrel, illetve a csak magnetitet tartalmazó polimer kompozittal jelentős eltéréseket figyelhetünk meg. Jól látható, hogy azonos geometriai elektródfelületek mellett a bionanokompoziton számottevően nagyobb redukciós áram folyik. Megfigyelhető továbbá, hogy a lejátszódó elektrokémiai folyamat már kisebb túlfeszültség alkalmazása mellett, pozitívabb potenciálon indul el (katalitikus hatás), mint a lakkázt nem tartalmazó elektródok esetén.



8. Ábra. Polipirrol, polipirrol/magnetit és polipirrol/magnetit/lakkáz elektródok ciklikus voltammogramjai foszfát-pufferben (pH=7, c=100mM), 25 mV/s ciklizálási sebességgel.

A lakkáz enzim beépítésével tehát sikerült javítanunk a polipirrol/magnetit kompozit oxigén redukciós reakcióban mutatott aktivitásán, azonban még ennél is fontosabb eredmény, hogy sikerült kidolgoznunk egy olyan egyszerű módszert, mely segítségével biomolekulákat dúsíthatunk fel polimer mátrixban.¹⁹ Úgy gondoljuk, hogy ez a módszer

nem csupán magnetit nanorészecskék, hanem bármilyen, vizes közegben eloszlatott oxid nanorészecske esetén működőképes alternatívát jelent elektroaktív biokompozitok előállítására.

3. Összefoglalás

Munkánk során nagy magnetit tartalmú vezető polimer vékonyrétegek elektrokémiai szintézisét valósítottuk meg. Az így nyert elektródok katalitikus aktivitást mutatnak mind a vízben oldott oxigén molekulák, mind a hidrogén-peroxid elektrokémiai redukciójában.

Megmutattuk, hogy a polipirrol/magnetit vékonyréteg adott koncentráció tartományban alkalmas lehet vizes oldatok hidrogén-peroxid koncentrációjának elektrokémiai meghatározására. A kalibrációt különböző mennyiségű oxigén jelenléte mellett elvégezve rámutattunk, hogy a kalibráló egyenes meredeksége csaknem független az oxigén mennyiségétől, így az elektród megfelelő lehet hidrogén-peroxid szenzorként való alkalmazásra.

A korábban kidolgozott módszer segítségével módosítva felületüket, a magnetit nanorészecskéken sikerrel rögzítettünk lakkáz enzimet. Az így kapott részecskéket vezető polimer mátrixba építve jelentősen megnövekedett elektrokatalitikus aktivitást tapasztaltunk az oxigén redukcióban, amit egyértelműen a lakkáz enzimhez rendelhetünk. Az így kidolgozott módszer bármilyen, vizes közegben eloszlatott oxid nanorészecske esetén működőképes alternatívát jelenthet elektroaktív biokompozitok előállítására.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás az OTKA PD105773 számú, „Vezetőpolimer-alapú kompozitok spektroelektrokémiai tanulmányozása”, illetve a „TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047 „Új, funkcionális anyagok által kiváltott biológiai és környezeti válaszok” pályázatok keretein belül valósult meg, amiért a szerzők ezúton fejezik ki köszönetüket.

Hivatkozások

1. Bundgaard, E.; Krebs, F. C. *Solar Energy Mater Solar Cells*. **2007**, 91, 954-985.
2. Gangopadhyay, R.; De, A. *Chemistry of Materials*. **2000**, 12, 608-622.
3. Gerard, M.; Chaubey, A.; Malhotra, B. D. *Biosensors and Bioelectronics*. **2002**, 17, 345-359.
4. Lange, U.; Roznyatovskaya, N. V.; Mirsky, V. M. *Anal Chim Acta*. **2008**, 614, 1-26.
5. Tallman, D.; Spinks, G.; Dominis, A.; Wallace, G. *Journal of Solid State Electrochemistry*. **2002**, 6, 73-84.
6. Janáky, C.; Visy, C. *Anal Bioanal Chem*. **2013**, 405, 3489-3511.
7. Håkansson, E.; Amiet, A.; Nahavandi, S.; Kaynak, A. *European Polymer Journal*. **2007**, 43, 205-213.
8. Xu, H.; Shao, M.; Chen, T.; Zhuo, S.; Wen, C.; Peng, M. *Microporous and Mesoporous Materials*. **2012**, 153, 35-40.
9. Netto, C. G. C. M.; Toma, H. E.; Andrade, L. H. *J Molec Catal B*. **2013**, 85-86, 71-92.
10. Endrődi, B.; Biró, A.; Janáky, C.; Tóth, I. Y.; Visy, C. *Synth Met*. **2013**, 171, 62-68.

11. Panias, D.; Taxiarchou, M.; Paspaliaris, I.; Kontopoulos, A. *Hydrometallurgy*. **1996**, 42, 257-265.
12. Van Oorschot, I. H. M.; Dekkers, M. J. *Geophysical Journal International*. **2001**, 145, 740-748.
13. Janáky, C.; Endrődi, B.; Berkesi, O.; Visy, C. *J Phys Chem C*. **2010**, 114, 19338-19344.
14. Bencsik, G.; Lukács, Z.; Visy, C. *Analyst*. **2010**, 135, 375-380.
15. Visy, C.; Bencsik, G.; Németh, Z.; Vértess, A. *Electrochim Acta*. **2008**, 53, 3942-3947.
16. Janáky, C. PhD. thesis, University of Szeged, **2010**.
<http://www.doktori.hu/index.php?menuid=193&vid=5043>
17. Bencsik, G.; Janáky, C.; Endrődi, B.; Visy, C. *Electrochim Acta*. **2012**, 73, 53-58.
18. Bencsik, G. PhD. thesis, University of Szeged, **2012**.
<http://www.doktori.hu/index.php?menuid=193&vid=9358>
19. Endrődi, B.; Kormányos, A.; Janáky, C.; Berkesi, O.; Visy, C. *Electrochim Acta*. **2014**, 122, 282-288.

Preparation and characterization of magnetic nanoparticle containing conducting polymer nanocomposites

Our research group has been active in the field of conducting polymer based hybrid assemblies for the last decade. One of our specific interests is devoted to nanocomposites containing magnetic nanoparticles. Magnetic nanoparticles (e.g. γ -Fe₂O₃, Fe₃O₄, CoFe₂O₄, Ni, Fe, metal alloys) with typical size of 1-30 nm usually exhibit superparamagnetic features, but rarely ferri- or ferromagnetic properties can also be observed. Incorporation of these nanoparticles results in hybrid materials which can be used in many different fields, e.g., magnetic separation, microwave shielding, catalysis, and sensors. We are interested in developing synthetic strategies to assemble these hybrid materials with precisely controlled composition and morphology.

Such nanocomposites can be prepared via either chemical or electrochemical methods. The latter procedure results in modified electrode surfaces, exhibiting the properties of both components. In this study, we present a method for the preparation of conducting polymer nanocomposite thin layers with high magnetite (Fe₃O₄) content. Catalytic activity of the hybrids is presented towards the electrochemical reduction of hydrogen-peroxide and molecular oxygen as well.

As a first step, we investigated the mechanism of the incorporation of magnetite nanoparticles into polypyrrole, based on the procedure available in the literature. We evidenced the iron oxalate formation on the nanoparticles' surface as a consequence of the interaction between the iron-oxide nanoparticles and the potassium tetraoxalate electrolyte (Figure 1.) by performing diffuse reflectance FT-IR measurements. The formation of the surface oxalate species was univocally confirmed by the development of the characteristic vibrational bands (Figure 2.). This surface reaction results in a negative surface charge, enabling the nanoparticles to incorporate into the polymeric film as part of the charge compensation during the oxidative polymerization (note that the polymer is formed in the oxidized, doped state).

The electrochemical studies showed that the voltammograms of the polypyrrole/magnetite layers became asymmetric in the presence of oxygen, namely much higher cathodic current could be measured (Figure 3.). We proved that the cathodic charge surplus is larger at lower sweep rates, and it is related to O₂-reduction. We have shown that under illumination, even higher currents can be detected. Note that conducting polymers are p-type semiconductors, and oxygen

is an excellent e⁻ scavenger, therefore such cathodic photocurrents are not surprising.

Considering the fact that H₂O₂ is a possible intermediate of the O₂ reduction (ORR), its reduction was also studied on our hybrid electrode. Importantly, a linear relation was found between the chronoamperometric current response and the hydrogen-peroxide concentration in the studied concentration range (Figure 4.). By having the calibration performed in solutions containing different amount of dissolved oxygen, we concluded, that the slope of the calibration curve is just slightly affected by the presence of oxygen (Figure 5.). On the ground of the results we may conclude that the electrocatalytic activity of the iron oxide nanoparticles of the polypyrrole/magnetite hybrid electrode can be exploited, and the electrode may serve as a good starting-point to further studies towards the development of a sensor for the quantitative determination of hydrogen peroxide in aqueous solutions, especially in the low concentration range, up to ~400 $\mu\text{mol dm}^{-3}$.

A novel and simple two-step technique, developed for the specific binding of laccase enzyme on magnetite nanoparticles was proved to be successful. Laccase immobilization was carried out by following the sequence shown in Figure 6. To form strong chemical bonds between the magnetite and the enzyme, surface of magnetite nanoparticles was modified by potassium tetraoxalate treatment. The interaction between the as formed oxalate-functionalized oxide surface and the enzyme was monitored by ex situ ATR-FT-IR spectroscopy.

By fine tuning of the polymerization circumstances, laccase coated magnetite nanoparticles were successfully embedded into polypyrrole matrix. The incorporation of the nanoparticles was evidenced by several methods, including Transmission Electron Microscopy (TEM), which evidenced the presence of slightly aggregated nanoparticles in the polymer matrix (Figure 7.). The enhanced electrocatalytic activity of PPY/Fe₃O₄/laccase hybrid towards oxygen reduction was demonstrated (Figure 8.). In addition, appearance of a new reduction peak univocally confirmed the electroactivity of the enzyme molecules in the hybrid configuration. It is expected that the presented concept can be extended to other, similar bio-nano assemblies, and the elaborated method can generally serve as the appropriate platform for enzyme immobilization on hydroxyl-group covered oxide NPs.

Önrendeződéssel előállított ZnO és ZnO₂ vékonyrétegek szenzorikus alkalmazása

SEBŐK Dániel,¹ ÁBRAHÁM Nóra¹ és DÉKÁNY Imre^{1,2,*}

¹MTA-SZTE Szupramolekuláris és Nanoszerkezetű Anyagok Kutatócsoport, Dóm tér 8., 6720, Szeged, Magyarország

²Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Vegytani Intézet, Dóm tér 8., 6720, Szeged, Magyarország

1. Bevezetés

A nanoméretű cink-oxid az utóbbi évtizedekben széleskörű érdeklődésre tart számot előnyös tulajdonságai miatt, melyeknek köszönhetően eredményesen alkalmazható az elektronika, az optika, a fotonika vagy a katalízis területén.^{1,2} Különös figyelmet kaptak a ZnO nanorészecskékből különböző technikával felépíthető vékonyrétegek, amelyek mások mellett a szenzorika területén rejtenek magukban számos lehetőséget.

A ZnO nanoméretű részecskéinek előállítására számos eljárás áll rendelkezésre, hagyományosan a kolloidkémiaiban ismert módszereken alapulva. Az egyik legelterjedtebben használt szintézismódszer során lúgos alkohol oldatban hidrolizálják el a cink-acetát-dihidrát prekursorzt,^{3,4} így 10 nm-nél kisebb, gömb alakú részecskéket lehet előállítani. További módszerek állnak rendelkezésre szerves, illetve vizes közegű preparációhoz, amelyekkel nagyon változatos méretű és morfológiájú részecskék állíthatók elő.⁵⁻⁷ Monodiszperz, azaz egyforma méretű és szabályos gömb alakú ZnO részecskék előállítására alig néhány példa található az irodalomban, egy ilyen módszer a cink-acetát-dihidrát hidrolízise dietilén-glikolban.^{8,9}

A félvezetők közül, köztük a különböző mérettel és morfológiával rendelkező ZnO nanoszerkezetekből kialakított vékonyrétegek szenzorikus alkalmazása igen elterjedt.¹⁰⁻¹⁴ A filmek preparálására is számos módszer ismeretes, úgymint a különböző fizikai és kémiai vékonyréteg-leválasztási technikák, a spray pirolízis, a szol-gél eljárás, az LbL (Layer-by-Layer) és Langmuir–Blodgett módszerek.¹⁵⁻²⁰

A gőz- és gáزدetektálásra alkalmazott módszerek túlnyomó része elektromos elven alapszik (vezetőképesség vagy ellenállás mérés), míg a folyadékfázisban történő (jelölésmentes) érzékelés általában átalakulás törésmutató-meghatározással kapcsolatos optikai elven nyugszik (pl. hullámvezető technika / „Optical Waveguide Lightmode Spectroscopy”, OWLS).

Munkánk során egy újszerű optikai mérési elvet és berendezést dolgoztunk ki, mely a néhány száz nanométer vastagságú rendezett ZnO vékonyrétegekről visszaverődő fény (reflexió) spektrumának analízisén alapszik. Az interferencia szélsőértékekkel modulált reflexió spektrum a felületi adszorpció következtében eltolódik a nagyobb hullámhosszak irányába. Az eltolódás mértékéből számítással és kalibrációval meghatározható a fajlagos adszorbeált mennyiség. A szenzorfelület kémiai módosítással érzékenyíthető és szelektívvé tehető.

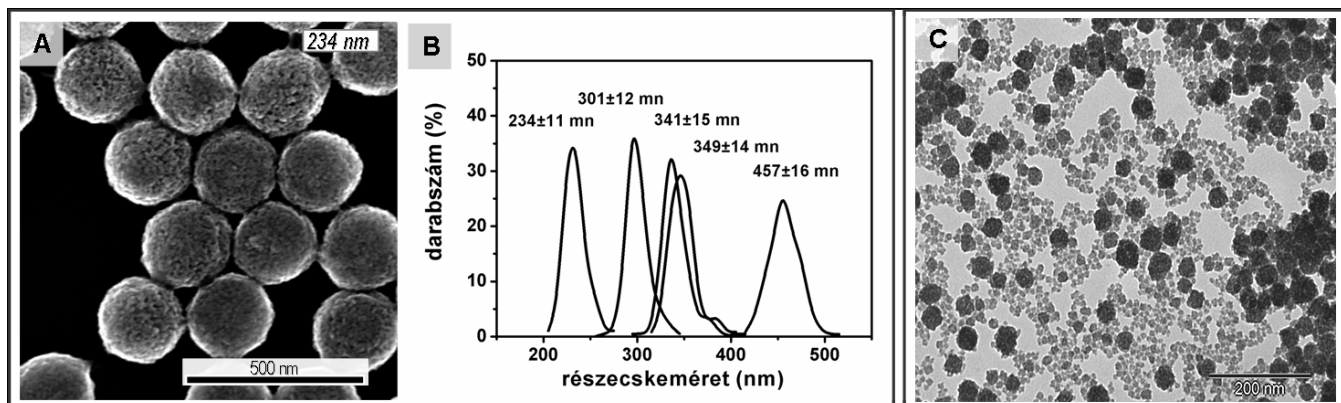
2. Eredmények és értékelésük

A szenzor felületeként funkcionáló részecskéket kétféle eljárással állítottuk elő. Az egyik módszer során dietilén-glikolban 160°C-on cink-acetát-dihidrát hidrolízisével szabályos gömb alakú, monodiszperz ZnO részecskéket kaptunk a 200–500 nm mérettartományban (1.A–B Ábra). Az aggregációs típusú növekedés során nagy számú primer kristály áll össze egy nagyobb méretű gömböt képezve. A primer alegységek méretét röntgendiffrakciós mérésekből határoztuk meg, amely mintától függően 9–15 nm között volt. Speciális struktúrájukból adódóan a részecskék nagy fajlagos felületűek (50–80 m²/g), és jelentős porozitást mutatnak (30–40%), amelyeket nitrogén adszorpciós-deszorpciós mérések alapján jellemeztünk.²⁰

A másik szintézis során a részecskéket cink-acetát-dihidrát vizes közegű fotolízisével állítottuk elő, ekkor a prekursorból hidrogén-peroxid jelenlétében UV besugárzás hatására 50–150 nm-es cink-peroxid részecskék keletkeznek (1.C Ábra).¹³ A nanoszol koncentrációja 8,5 g/L, pH-ja enyhén savas (pH ~ 4,5–5), mely két szempontból is fontos paraméter: i) alacsonyabb (pH < 4) érték esetén a részecskék feloldódnak a közegben, ii) magasabb pH esetén pedig nem kellően biztosított a részecskék pozitív felületi töltése, amely az LbL filmépítési technika során szükséges. Termogravimetriás (TG, DTG) vizsgálatokkal megállapítottuk, hogy a 60°C-on beszárítással nyert ZnO₂ porminta 250°C-on történő hőkezeléssel maradéktalanul átalakul cink-oxiddá, a hőmérséklet további növelésével (400–800°C) egyre nagyobb kristályossági fok érhető el, melyre a röntgen-diffraktogramok egyre csökkenő félértékszélességéből következtettünk.

Vékonyrétegek előállításához a kétféle részecske esetén két különböző eljárást használtunk. Az egyforma méretű, szabályos gömb alakú ZnO részecskékből lehetőség van rendezett vízfelszíni Langmuir-filmek előállítására, illetve ezek szilárd hordozókra is átvihetők a Langmuir–Blodgett (LB) technika segítségével (2.A Ábra). A Langmuir–kádban víz/levegő határfelületben megfelelő felületi tulajdonságú, egyforma részecskékből létrehozható egy részecske vastagságú, hexagonálisan rendezett film. A részecskék határfelületbeli viselkedése oldalnyomás vs. terület izorermákkal jellemezhető, ez alapján megállapítható a tömör film kialakulása. A vízfelszíni film többféle módszerrel is átvihető különböző hordozókra (Langmuir–Blodgett, Langmuir–Schäfer, Roll-to-roll), kísérleteink során a legelterjedtebb LB-technikát használtuk. Ezzel a módszerrel (ahogyan a 2. Ábrán is látszik) a hordozó mindkét oldalán kialakul a film, illetve a filmképzési

* Főszerző. Tel.: 62/544-210; fax: 62/544-042; e-mail: i.dekany@chem.u-szeged.hu

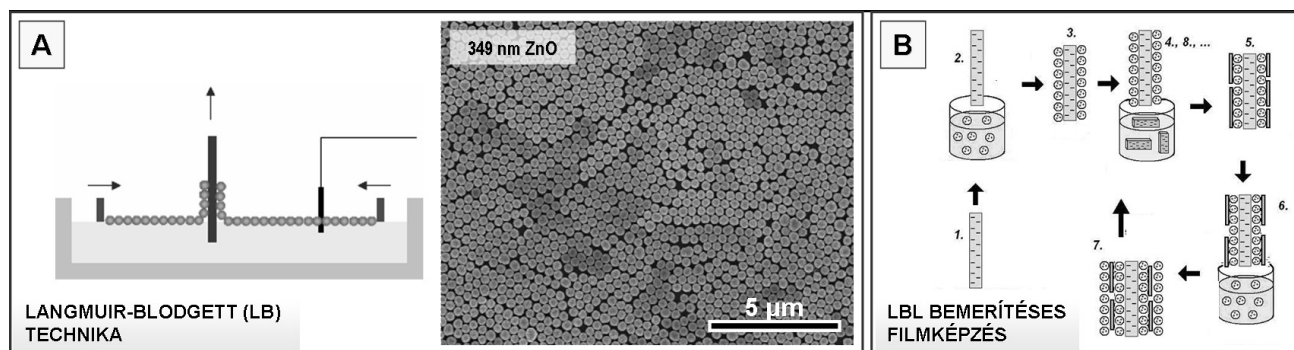


1. **Ábra.** A) Szabályos gömb alakú, monodiszperz részecskék pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) felvétele, B) jellemző méreteloszlási görbék az egyes ZnO szolokban, C) ZnO részecskék transzmissziós elektronmikroszkópos felvétele.

eljárás ismétlésével lehetőség van többrétegű filmek előállítására is. A fentebb bemutatott ZnO részecskékből sikeresen előállítottunk rendezett, tömör vízfelszíni filmeket, amelyeket azután hidrophil felületű üveglemezre vittünk fel. Egy ilyen rendezett, egyrétegű film pásztázó elektronmikroszkópos képe látható a 2.A Ábrán. Az optikai (reflexió) vizsgálatokhoz a 234 nm átlagos méretű ZnO részecskékből többrétegű (1–5) filmeket építettünk fel, a nagyobb részecskeméret esetén a részecskék fényelnyelése illetve fényszórása már jelentősebb hibát okoz a későbbiekben bemutatásra kerülő optikai számításoknál. A nagyobb (300–500 nm) részecskékből felépített rendezett filmek fotonikus kristályként viselkednek, a transzmittancia spektrumokon megjelenik az ún. fotonikus tiltott sáv (ang. „photonic band gap”).

A másik, ún. bemeztéses önrendező eljárás (rétegről-rétegre építkezés, ang. „Layer-by-Layer self-assembly”, LbL) során az ellentétes (felületi) töltésű kolloidok alternálódva egymásra

épülését alkalmaztuk (2.B Ábra). A negatív felületi töltésű (ft.) üveg vagy Si hordozón az első réteget a pozitív ft. ZnO₂ ill. ZnO nanorészecskék alkotják, majd öblítés és szárítás után a következő lépésben történik a negatív ft. agyagásvány (pl. Na-hektorit) vagy polianion (pl. polisztirol-szulfonát, PSS), kvázi „kötoanyag” adszorpciója. E két lépés tetszőleges számú ismétlésével kapunk különböző kettősrétegszámú $[+]/[-]_n$ vékonyrétegeket. A filmek esetünkben jellemzően 15, 20 vagy 25 kettősrétegből állnak (rétegvastagság, $d \sim 400\text{--}700\text{ nm}$). Magasabb rétegszám esetén a filmek rendezettsége, ezáltal átlátszósága és reflexiója rohamosan csökken, kevesebb számú réteg esetén pedig a film rétegvastagsága olyan alacsony, hogy a látható fény interferenciája (ill. az interferencia által okozott moduláció) nem, vagy nem elégséges mértékben fejeződik ki a reflexió spektrumokon. Mind a vékonyrétegek fizikai paramétereinek meghatározásához, mind pedig a szenzorként való alkalmazáshoz szükséges feltétel, hogy a reflexió spektrumok a látható fény hullámhossz-tartományában legalább 2–3 szélsőértékkel rendelkezzenek.

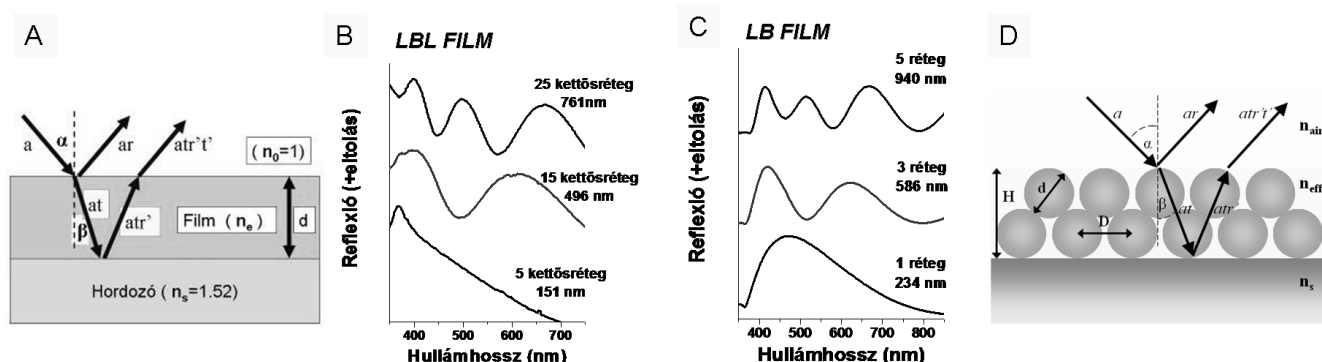


2. **Ábra.** A) A Langmuir–Blodgett-technika elve, illetve egy 349 nm-es ZnO részecskékből készített egyrétegű LB-film SEM képe. B) Az LbL bemeztéses filmképzési eljárás folyamata.

A vékonyrétegek jellemzéséhez (rétegvastagság, hullámhosszfűgő törésmutató meghatározása, visszavert fény intenzitásának számítása stb.) különböző optikai modelleket alkottunk és minden esetben a vékonyréteg homogenizálására törekedtünk.

Az ún. bemeztéses önrendeződéses (LbL) eljárással elkészített filmek modellezésekor egy hordozóból és három komponensből álló rendszert vettünk alapul: üveghordozó, törésmutatója $n_s = 1,52$; ZnO₂ ill. ZnO réteg, $n = n(\lambda)$;

„kötoanyag”, n_k ; pórus, $n_p = 1$. Utóbbi három szerepét ún. effektív közeg közelítéssel (szilárdtest–pórus átlagolással) vettük figyelembe,²¹ mely a filmet egy állandó rétegvastagságú (d) és effektív törésmutatójú (n_e) közegként kezeli (3.A Ábra). Az ily módon kialakított, hordozóból és homogén rétegből álló rendszerben kétsugaras interferencia modellt alkalmaztunk, azaz csak a réteg felületéről közvetlenül visszaverődő és a filmen keresztülhaladó, hordozó felületéről visszaverődő sugarakat összegeztük komplex amplitúdók módszerével. Végeredményül a



3. Ábra. Az LbL (A) és LB (D) technikával készített filmek jellemzésére használt modellek és a különböző vastagságú vékonyrétegekről visszaverődő fény spektrumai (B,C).

következő egyenletet kaptuk:

$$I_r \sim r^2 + r'^2(1-r^2)^2 + 2rr'(1-r^2)\cos(4\pi n_e d \cos\beta / \lambda), \quad (1)$$

ahol r a film felületének amplitúdó reflexiója, t a ritkább közeg felőli áthaladás amplitúdó transzmissziója, r' a szubsztrát amplitúdó reflexiója, t' a sűrűbb közeg felőli áthaladás amplitúdó transzmissziója, n_e a közeg effektív törésmutatója λ hullámhosszon, d a rétegvastagság és β a törés szöge.²² Az (1) egyenlet által leírt görbét a mért spektrumra illesztve határozható meg d és $n_e(\lambda)$ értéke a film szerkezetének pontos ismerete nélkül.

Ezzel szemben a rendezett ZnO részecskés filmek esetén lehetőség van pontosan kiszámítani a film effektív törésmutatóját és rétegvastagságát a részecskék és a film tulajdonságainak ismeretében (részecske átmérő (d), részecske porozitás (p), rétegszám (k), szomszédos részecskék középpontjainak távolsága a filmben (D)). A bemerítéses filmképzéssel létrehozott vékonyrétegeknél alkalmazott modellt a rendezett filmekre érvényes számításokkal egészítettük ki (3.D Ábra).²³ A vékonyrétegek vastagságát (H) a következő egyenlet alapján határoztuk meg:

$$H = d + (k-1)\sqrt{d^2 - \frac{D^2}{3}} \quad (2)$$

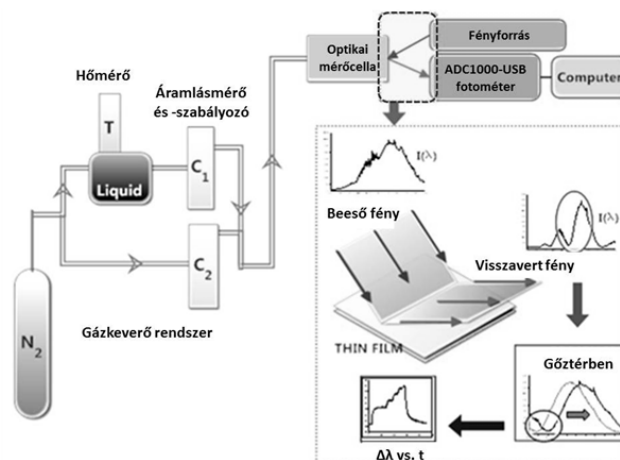
a filmek effektív törésmutatójának számításánál pedig figyelembe vettük a részecskék filmbeli térfogattörtjét (f_p):

$$f_p = \frac{kd^3\pi}{3\sqrt{3}D^2H}. \quad (3)$$

A számolások és a mért görbére való illesztés segítségével meghatározhatók a filmbeli részecske-részecske távolságok, továbbá a filmek effektív törésmutatója és vastagsága.

A 3.C és 3.D Ábrákon bemutatjuk az LBL bemerítéssel készített filmek és az LB-filmek esetén mért reflexió spektrumokat. Megfigyelhető, hogy a rétegszám növekedésével mindkét esetben nő az interferencia miatt jelentkező szélsőértékek száma, továbbá szembetűnő a hasonlóságuk. Ennek oka, hogy a sugarak által bejárt optikai úthossz (a törésmutató és a rétegvastagság szorzata) ugyanannyi, ami az LB filmek esetén kisebb törésmutatót és nagyobb rétegvastagságot jelent az LBL filmekhez viszonyítva.

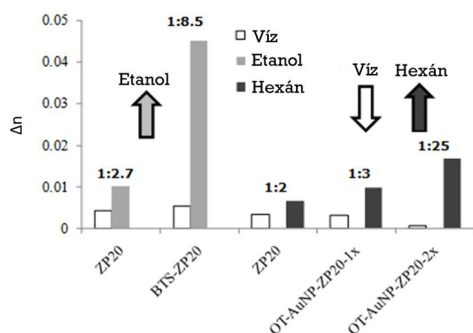
Az (1) egyenletből látható, hogy a visszaverődött sugarak intenzitása (I_r) és a reflexió spektrumok szélsőértékeihez tartozó hullámhosszak erősen függenek a közeg effektív törésmutatójától. Amennyiben gőz vagy gáz adszorbeálódik a film felületén és/vagy pórusaiban, az n_e növekedése miatt a spektrumok a nagyobb hullámhosszak felé tolódnak el. A jelenség vizsgálata és kvantitatív jellemzése céljából mérési berendezést készítettünk (4. Ábra). Ennek főbb elemei: 1) gázkeverő rendszer, melyben a gőz-/gázkoncentrációk beállítása történik; 2) a gázkeverő rendszer főága egy optikai száakkal ellátott mérőcellába torkollik, melyben a vékonyrétegről visszaverődő fény szinképét detektáljuk; 3) számítógépes programot fejlesztettünk, mely minden időpillanatban rögzíti az interferenciával modulált reflexió spektrum egy kiválasztott tartományát, a szinképszakaszra történő polinom-illesztéssel csökkenti a jel/zaj viszonyt és valós időben meghatározza a különböző gőzkoncentrációkhoz tartozó adszorpció következtében megnövekedett effektív törésmutatót a minimum- (vagy maximum-) helyhez tartozó hullámhosszon. Az adatokat az idő függvényében ábrázolva információt nyerhetünk az adszorbeált mennyiséget illetően. Ennek pontos értéke a spektrum eltolódásából számítással és/vagy kalibrációval határozható meg, melyből az egyensúlyi relatív gőznyomások ismeretében megadhatjuk az adszorpció izotermát.



4. Ábra. A gőz-/gázadszorpció meghatározására szolgáló optikai mérőberendezés és mérési elv sematikus ábrája.

A fent bemutatott mérési elv és berendezés felhasználásával vizsgáltuk az előállított ZnO₂ vékonyrétegek adszorpció

tulajdonságait ill. szenzorikus alkalmazhatóságát. Ezen túlmenően kísérletet tettünk a szenzorfelület érzékenyítésére és a szelektivitás növelésére. Víz, etanol és hexán gőz adszorpcióját mértük eredeti (ZP20), butil-triklórszilánal (BTS-ZP20) és oktántiollal borított arany nanorészecskékkel egyszer (OT-AuNP-ZP20-1x) ill. kétszer (OT-AuNP-ZP20-2x) módosított 20 kettősrétegszámú ZnO_2/PSS vékonyrétegek felületén. Megállapítottuk, hogy a butil-triklórszilánal való kezelés hatására a vízgőz adszorpciója kis mértékben változott, ezzel szemben az etilalkohol gőz adszorbeált mennyisége többszörösére növekedett, az eredeti víz: etanol arány 1:2,7-ről 1:8,5-re növekedett (5. Ábra), mely a szelektivitás növekedésére enged következtetni. Az oktántiollal borított arany nanorészecskékkel való felületmódosítást két tény indokolta: az egyik, hogy az alkiltiol vegyületek hosszú szénláncai hidrofobizálják a felületet, ezzel elősegítve a hexán gőz adszorpcióját, másfelől a kis átmérőjű ($d=2$ nm) és hidrofób felületű arany nanorészecskék képesek a vékonyréteg felületi pórusait lezárni, ezáltal megakadályozni a víz molekulák film belseje felé történő átjutását. Megállapítottuk, hogy a felületmódosítással hidrofobizáltuk a szenzor felületét, melynek hatására az adszorbeált víz mennyisége drasztikusan lecsökkent, míg a megkötődött hexán gőz mennyisége jelentősen nőtt, a kettő aránya 1:2-ről 1:25 értékre, kvázi egy nagyságrenddel növekedett (5. Ábra).



5. Ábra. Víz, etanol és hexán gőz adszorpció hatására bekövetkező törésmutató változások eredeti (ZP20), butil-triklórszilánal kezelt (BTS-ZP20) és oktántiollal borított arany nanorészecskékkel módosított (OT-AuNP-ZP20-1x ill. -2x) ZnO_2/PSS filmek esetén.

3. Összefoglalás

Munkánk során dietilén-glikol közegben 200–500 nm mérettartományba eső, monodiszperz ZnO ill. vizes közegben 50–150 nm ZnO_2 nanorészecskéket állítottunk elő. Előbbiekől Langmuir–Blodgett-módszerrel hexagonálisan rendezett filmeket készítettünk, míg utóbbiakat ún. önrendeződéses bemeztetés (LbL) technikával alkalmaztuk vékonyrétegek előállítására. A filmeket különböző szilárdtest és hullámoptikai modellekkel jellemeztük, meghatároztuk a rétegek vastagságát és hullámhosszfüggő törésmutatóját, valamint a rendezett LB-filmek további strukturális paramétereit. Megállapítottuk, hogy a vékonyrétegek effektív törésmutatója gőz- ill. gázadszorpció hatására megnövekszik, melynek hatására a vékonyrétegekről visszaverődő fény interferencia szélsőértékekkel modulált spektruma a magasabb hullámhosszak irányába tolódik el. Ezt az új típusú optikai mérési elvet alkalmaztuk a

vékonyrétegek felületén megkötődő víz, etanol és hexán gőz mennyiségének jellemzésére. A filmek felületét sikeresen módosítottuk butil-triklórszilánal, melynek következtében a szenzor érzékenysége jelentős mértékben nőtt etanol gőzével szemben. Oktántiollal borított arany nanorészecskékkel való hidrofobizálás hatására az adszorbeált vízgőz mennyisége drasztikusan lecsökkent, míg a hexán gőzzel szembeni érzékenység többszörösére növekedett. A bemutatott kutatás jelentős előrelépést jelent egy új típusú optikai elven működő (bio)szenzor fejlesztésében, a mérési elv gázfázisból folyadék üzemmódba történő átültetésével.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás az Európai Unió és Magyarország támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretei között valósult meg.

Hivatkozások

- Wang, Z. L.: Zinc oxide nanostructures: growth, properties and applications, *J. Phys.: Condens. Matter* **2004**, *16*, R829–R858.
- Özgür, Ü.; Alivov, Ya. I.; Liu, C.; Teke, A.; Reshchikov M. A.; Doğan S.; Avrutin V.; Cho S.-J.; Morkoç H. *J. Appl. Phys.* **98** (2005) 041301.
- Bahnemann, D.W.; Kormann, C.; Hoffmann, M.R. *J. Phys. Chem.* **1987**, *91*, 3789–3798.
- Spanhel, L.; Anderson, M.A. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 2826–2833.
- Rodriguez-Gattorno, G.; Santiago-Jacinto, P.; Rendon-Vázquez, L.; Németh, J.; Dékány, I.; Diaz, D. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 12597–12604.
- Pál, E.; Hornok, V.; Oszkó, A.; Dékány, I. *Colloid Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* **2009**, *340*, 1–9.
- Guo, L.; Yang, S. *Chem. Mater.* **2000**, *12*, 2268–2274.
- Jezequel, D.; Guenot, J.; Jouini, N.; Fivet, F. *Materials Science Forum* **1994**, *152-153*, 339–342.
- Seelig, E. W.; Tang, B.; Yamilov, A.; Cao, H.; Chang, R. P. H.: Self-assembled 3D photonic crystals from ZnO colloidal spheres, *Materials Chemistry and Physics* **2003**, *80*, 257–263.
- Cheng, X.L.; Zhao, H.; Huo, L.H.; Gao, S.; Zhao, J.G. *Sensor. Actuat. B-Chem.* **2004**, *102*, 248–252.
- Zhang, J.; Liu, X.; Wu, S.; Cao, B.; Zheng, S. *Sensor. Actuat. B-Chem.* **2012**, *169*, 61–66.
- Wang, X.J.; Wang, W.; Liu, Y.L. *Sensor. Actuat. B-Chem.* **2012**, *168*, 39–45.
- Sebők, D.; Janovák, L.; Dékány, I. *Appl. Surf. Sci.* **2010**, *256*, 5349–5354.
- Pál, E.; Sebők, D.; Hornok V.; Dékány, I. *J. Colloid Interf. Sci.* **2009**, *332*, 173–182.
- Phan, T.L.; Yu, S.C.; Vincent, R.; Dan, N.H.; Shi, W.S. *J. Lumin.* **2010**, *130*, 1142–1146.
- Pál, E.; Seemann, T.; Zöllmer, V.; Busse, M.; Dékány, I. *Colloid. Polym. Sci.* **2009**, *287*, 481–485.
- Krunks, M.; Katerski, A.; Dedova, T.; Acik, I.O.; Mere, A. *Sol. Energ. Mat. Sol. C.* **2008**, *92*, 1016–1019.
- Decher, G.; Schlenoff, J.B. *Multilayer thin films*, WILEY-VCH Verlag GmbH & KGaA: Weinheim, **2003**.
- Pál, E.; Hornok, V.; Sebők, D.; Majzik, A.; Dékány, I. *Colloid. Surface. B.* **2010**, *79*, 276–283.

20. Ábrahám, N.; Sebők, D.; Papp, Sz.; Körösi, L.; Dékány I. *Colloid. Surface. A.* **2011**, *384*, 80–89.
21. Astrova, E. V.; Tolmachev, V. A. *Mater. Sci. and Eng. B* **2000**, *69–70*, 142–148.
22. Sebők, D. Ph.D. Dissertation, University of Szeged, 2012.
23. Ábrahám, N. Ph.D. Dissertation, University of Szeged, 2013.

Sensorial application of ZnO and ZnO₂ thin films prepared by self-assembly techniques

In this work we have presented the synthesis of ZnO and ZnO₂ nanoparticles, the preparation of thin films by self-assembly techniques (Layer-by-Layer/LbL dip coating and Langmuir-Blodgett) and the development of a novel gas sensor based on optical reflectance measurements.

Monodispersed, spherical ZnO particles in the size range of 200–500 nm were synthesized in diethylene glycol media. Scanning electron microscopic images and transmission electron microscopic images revealed that the particles are monodispersed spheres with standard deviation less than 5% (Fig. 1.A and 1.B.). The aggregation type growth mechanism resulted in high surface area (50–80%) and highly porous structure, which were characterized by nitrogen adsorption and desorption measurements. X-ray diffraction measurements revealed the crystallinity of the primary particles, the average size of the crystallized subunits is 9–15 nm. In the other process zinc peroxide nanoparticles were prepared by the photolysis of zinc acetate dihydrate in aqueous medium (Fig. 1.C). It leads to the formation of ZnO₂ nanoparticles with diameter in the range of 15–150 nm, with increasing size during the synthesis. We investigated the optical and structural properties of the prepared nanoparticles, we determined their size and studied their thermal decomposition and surface charge. During high temperature heat treatment ($T > 210$ °C) there is a structural change of zinc peroxide, and the result of thermal degradation are ZnO particles. The heat treatment (200–800 °C) results a systematical primary particle size change from 15 nm to 60 nm (calculated by Debye–Scherrer equation).

Langmuir-films at the air/water interface were formed with the monodispersed ZnO particles, the measured surface pressure vs. surface area isotherms showed that the particles form stable, hexagonally close packed monolayer on the water surface. We have used Langmuir–Blodgett technique for transferring the floating monolayers of ZnO particles onto solid substrates (Fig. 2.A). Single and multilayered films were prepared for optical measurements. Layer-by-Layer self-assembly technique was used to prepare thin films from the positively surface charged ZnO₂ particles and negatively surface charged binding materials (PSS, poly(styrenesulfonate) as polyelectrolyte, and Na-hectorite as layered silicate) with 15–25 bilayer number ($d \sim 400$ – 700 nm) (Fig. 2.B).

The main goal of the work was to develop a profiling method to measure and calculate the optical properties of hybrid thin films, mainly the effective refractive index (as a function of wavelength) and layer thickness. The former's importance is given by the fact that in the presence of gases and vapors the reflection spectrum of the films is shifting toward the higher wavelength range because of the increasing effective refractive index.

Reflectance spectra were measured and fitted with appropriate optical models which considered also the special particle arrangement (Fig. 3.). The parameters of the optical model assigned effective refractive index, film thickness and average particle-particle distance in the film.

We have observed that the reflection spectra of the ZnO₂/PSS hybrids shift toward the higher wavelengths if they are in atmosphere that contains water or organic vapors. Exploiting this phenomenon we have developed a sensor based on the change of optical properties of these thin films for the detection and characterization of the adsorption of vapors. A light source, a liquid holder unit with temperature control, a gas mixer containing vapor dosing unit, a sample holder and a photometer as detector are the parts of the four-channel gas-flow sensor system (Fig. 4.). The system is capable for recording reflection spectra in every second and converting the wavelength shift to refractive index change. One of the key element of the method is to precisely determine the position of a local extreme value of the measured curve. The noise level exceeds many times the intensity difference between two neighboring data points, thus finding the right value can be missed easily. To find the real value of the local minimum (or maximum), we have used nine degree polynomial fitting of reflection curves, which resulted in a high quality smoothing in the monitoring of minimum wavelengths. The specific adsorbed amount was determined from the refractive index change after calibration with quartz crystal microbalance (QCM).

The ZnO₂/PSS hybrid films were modified with butyl trichlorosilane and octanethiol coated gold nanoparticles to increase the sensitivity and hydrophobicity of the sensor surface. In case of butyl trichlorosilane we have found that the surface became highly sensitive for the vapor of ethanol. After modification the specific adsorbed amount of ethanol was nine times higher than the original, while for water it was only tripled, so the quantity of adsorbed ethyl alcohol were four times higher than water quantity. The treatment by octanethiol coated gold nanoparticles caused the surface to become completely hydrophobic, which had significant effect in the adsorbed amounts: 25-times higher adsorption was observed for hexane compared to water (Fig. 5.)

ACKNOWLEDGEMENT

This research was supported by the European Union and the State of Hungary, co-financed by the European Social Fund in the framework of TÁMOP-4.2.4.A/ 2-11/1-2012-0001 'National Excellence Program'.

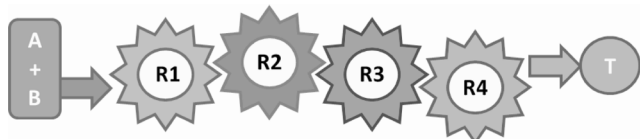
Királisan módosított fémfelülettel katalizált aszimmetrikus kaszkád reakciók

SZÖLLŐSI György*

^aMTA-SZTE Sztereokémiai Kutatócsoport, Szegedi Tudományegyetem, Szerves Kémiai Tanszék, Dóm tér 8., 6720 Szeged, Magyarország

1. Bevezetés

Optikailag tiszta szerves vegyületek széleskörű alkalmazása a finomvegyszer ipar számos területén az utóbbi néhány évtizedben a szerves kémiai kutatások súlypontját a sztereoszelektív reakciók tanulmányozására helyezte. E kutatások eredményeképpen számos gyakorlati jelentőségű királis vegyület előállítására sikerült enantioszelektív katalitikus eljárást kifejleszteni,^{1,2} amelyek hatékonyak, ugyanakkor megfelelnek a finomkémiai iparral szemben napjainkban támasztott követelményeknek, így felválthatják a korábban alkalmazott aszimmetrikus szintéziseket. A használt királis katalizátorok döntően optikailag tiszta ligandumot tartalmazó fémkomplexek,³ valamint sav illetve bázis katalizátorként alkalmazott enantiomertiszta szerves vegyületek, úgynevezett organokatalizátorok.⁴ E katalizátorok gyakran több aszimmetrikus reakcióban is alkalmazhatók, ami lehetőséget nyit ezek egymást követő „egy-üst” (one-pot) kivitelezésére.⁵ Az ily módon végzett, az 1. ábrán szemléltetett, úgynevezett aszimmetrikus kaszkád vagy dominó reakciók, amelyek nem igénylik a lépések közötti beavatkozást, napjainkra rendkívül elterjedté váltak,⁶⁻⁸ mivel kivitelezésük egyszerű és szükségtelenné tesznek köztes tisztítási lépéseket, jelentősen csökkentve a kívánt, nagy hozzáadott értéket képviselő finomkémiai termékek előállítási költségeit. Ugyanakkor alkalmasak bonyolult, többfunkciós szerves molekulák, mint például természetes vagy biológiailag aktív vegyületek előállítására.^{9,10}



1. Ábra. Aszimmetrikus kaszkád reakciók szemléltetése, ahol **A** és **B** a kiindulási anyagok, **T** a termék és **R1**, **R2**, **R3** és **R4** az egymást követő reakciók, amelyekből legalább az egyik enantioszelektív.

Napjainkban a környezeti terhelés csökkentésére és a természetes források hatékony kihasználására helyezett kiemelt hangsúly a finomkémiai folyamatokkal szemben is egyre szigorúbb követelményeket eredményezett. E követelmények teljesítéséhez járulhat hozzá az újrahasználat heterogén katalizátorok használata az aszimmetrikus szintézisekben. A hatékony királis katalizátorok, fémkomplexek vagy organokatalizátorok, rögzítése a reakcióközegben nem oldódó és így külön fázist alkotó anyagokon(ban) egyszerű megközelítésnek tűnhet, azonban sok esetben e rögzítés kedvezőtlenül befolyásolja a katalizátor aktivitását és/vagy sztereoszelektivitását. A kiterjedt erőfeszítéseknek köszönhetően ugyanakkor számos hatékony heterogénizált királis katalizátort is sikerült előállítani több lépéses, néha bonyolult módszerek

*e-mail: szollosi@chem.u-szeged.hu

alkalmazásával.^{11,12} E katalizátorok körülményes előállítása azonban jelentősen csökkentette széleskörű elterjedésüket a laboratóriumi vagy finomvegyszer ipari gyakorlatban. A nagy aktivitással rendelkező hordozós vagy vázszerkezetű fémkatalizátorok felületének módosítása optikailag tiszta anyagokkal sokkal egyszerűbb módszer heterogén aszimmetrikus katalizátorok kialakítására.¹³ A modern szerves kémia fejlődési irányának megfelelően, néhány aszimmetrikus kaszkád reakcióban is sikerült alkalmazni e katalizátorokat, ezek áttekintése a jelen közlemény célja. Az áttekintés az olyan reakciókat veszi számba, amelyek során az enantioszelektív lépés a királis fémfelületen játszódik le, tehát legalább egy királis centrum a felületen alakul ki és eltekint azoktól, amelyek során a heterogén katalizátor nem az aszimmetrikus lépést katalizálja.¹⁴

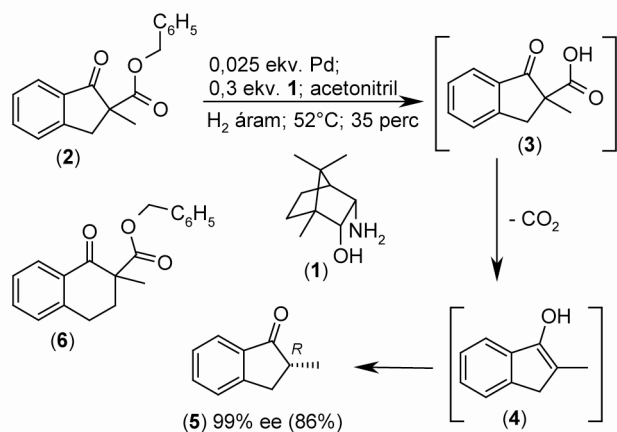
Királisan módosított fémeket elsősorban enantioszelektív hidrogénezésekben használtak sikeresen.¹³ A vizsgált katalizátor rendszerek közül a leghatékonyabbaknak a borkősavval módosított Ni,¹⁵ a cinkona alkaloidokkal módosított Pt^{13,16-18} és Pd^{13,19-21} és az optikailag tiszta 1,2-diaminokkal módosított Ru²² és Ir²³ katalizátorok bizonyultak. Ezek közül csupán néhányat sikerült alkalmazni aszimmetrikus kaszkád reakciókban. Ez elsősorban annak tulajdonítható, hogy a kaszkád reakciók elsődleges követelménye, azaz, hogy az egymást követő reakciólépések szelektíven és a kívánt sorrendben menjenek végbe más reaktív funkciók csoportok jelenlétében, a heterogén fémfelületeken csak kivételes esetekben teljesül.

2. Aszimmetrikus kaszkád reakciók módosított Pd katalizátoron

Pd katalizátorok rendkívül aktívak olefinek, alkinek, nitrovegyületek, iminek hidrogénezésében, C–O, C–N és C–Halogén kötések hidrogenolízisében, izomerizációs és C–C kapcsolási reakciókban. Mindemellett α,β -telítetlen karbonsavak enantioszelektíven hidrogénezhetők cinkonidinnel módosított Pd katalizátorokkal.¹⁹⁻²¹ Így nem meglepőek azok az erőfeszítések, amelyek Pd felületen lejátszódó aszimmetrikus kaszkád reakciók fejlesztését célozták meg. Mivel csupán egyetlen ilyen kaszkád reakció ismert, ezért elsőként egy olyan reakcióról lesz szó, amelyről a kezdetekben elképzelhetőnek tartották, hogy az enantioszelektív lépés a fémfelületen játszódik le, azonban a későbbi vizsgálatok arra utaltak, hogy ez a folyamat fázisban történik. Történelmileg azonban a reakció kiemelkedő fontosságú, hiszen elsőként alkalmazott heterogén katalizátort aszimmetrikus kaszkád reakcióban, így ösztönzőleg hatott a napjainkban ismert heterogén katalitikus eljárások kifejlesztésére.²⁴

2.1. 2-Subsztituált cikloalkanonok enantioszelektív előállítása heterogén Pd katalizátoron

Aszimmetrikus enol-keto tautomerizációs reakció felhasználásával Muzart és munkatársai az 1990-es években 2-alkilcikloalkanonokat állítottak elő α -disubsztituált- β -keto benzil/allil észterekből vagy gyűrűs 2-alkil enol karbonátokból jó enantioszelektivitással Pd/C katalizátorokon királis aminoalkoholok jelenlétében.^{24,25} A Pd katalizált hidrogenolízissel induló kaszkád reakciókban a legnagyobb enantioszelektivitásokat (+)-endo-2-hidroxi-endo-3-aminobornán (1) használatával lehetett elérni β -keto észterek reakcióiban, mint például 2-metil-2-benziloxikarbonil-1-indanon (2) átalakításával, amint a 2. ábrán látható,²⁶ de természetes cinkona alkaloidok is jó eredményeket szolgáltattak.²⁷ A kaszkád reakció sztereoselektív lépése a dekarboxilezéssel keletkező 4 enol tautomerizációja 5 ketonná, amely lejátszódhat mind a királis módosított Pd felületen, mind a folyadékfázisban.²⁸ A közelmúltban Baiker és munkatársai 2-metil-2-benziloxikarbonil-1-tetralon (6, 2. ábra) átalakítását vizsgálva cinkona alkaloidok illetve (-)-efedrin jelenlétében arra következtettek, hogy a kaszkád reakció utolsó két lépése nem a Pd felületen, hanem a folyadékfázisban királis szerves bázissal katalizált reakcióként megy végbe, a Pd katalizátornak „csak” a kezdeti C–O kötés hidrogenolízisében vagyis a kaszkád elindításában van szerepe, amint a 3. ábra szemlélteti.²⁹



2. Ábra. 2-Metil-2-benziloxikarbonil-1-indanon (2) átalakítása (*R*)-2-metil-1-indanonná (5) Pd/C-el katalizált enantioszelektív kaszkád reakcióval (+)-endo-2-hidroxi-endo-3-aminobornán (1) jelenlétében (ee: enantiomer felesleg; zárójelben az elért termelés).

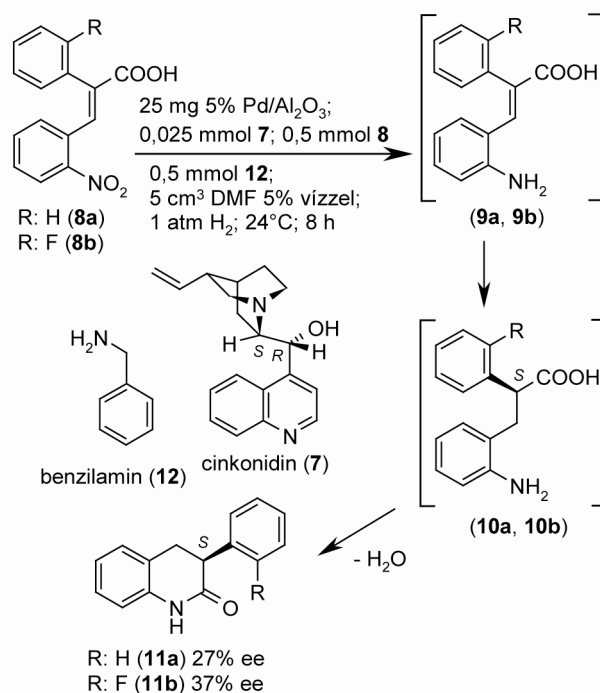
2.2. 3-(2-Nitrofenil)propénsav származékok enantioszelektív hidrogénezése Pd katalizátoron

Prokirális α,β -telítetlen karbonsavak enantioszelektív hidrogénezhetők cinkonidinnel (7) módosított Pd katalizátorokon. A legnagyobb enantioszelektivitásokat (*E*)-2,3-difenilpropénsav származékainak hidrogénezéseiben lehet elérni (96% ee), azonban nemrég kimutattuk, hogy a szubsztituensek helyzete meghatározza a módosító-sav kölcsönhatás hatékonyságát.³⁰⁻³³ A közelmúltban tanulmányainkat kiterjesztettük nitro csoportot tartalmazó származékokra is, amely csoport ugyancsak könnyen redukálható hordozós Pd katalizátoron H_2 gázzal.³⁴ Amennyiben a 3-fenil gyűrűn *orto* helyzetben helyezkedik el a nitro csoport (8) a keletkező aminokarbonsavak (10) intramolekuláris gyűrűzárással 3-fenil-3,4-dihidrokinolin-

2(1*H*)-on származékokat (11) eredményeznek teljes átalakulásnál. Az így lejátszódó katalitikus kaszkád reakció enantioszelektív lépése a prokirális C=C kötés hidrogénezése 7-el módosított Pd felületen. Ezt a lépést megelőzi a nitro csoport gyors redukciója, amint a 4. ábrán látható. A nitro csoport előzetes redukcióját alátámasztja a nitro származékok reakciójának megnövekedett kezdeti sebessége a 3-fenil *orto* metoxi vagy fluor szubsztituált származékokhoz képest.^{28,29}



3. Ábra. α -Disubsztituált- β -ketoészterek Pd/C és aminoalkoholok jelenlétében lejátszódó kaszkád reakciójának szemléltetése, ahol H: hidrogenolízis, dK: dekarboxilezés és ET: enantioszelektív tautomerizáció; fekete alapon a Pd felületen lejátszódó lépés, átmenetes színezéssel a vitatható lépés.



4. Ábra. (*E*)-2-Fenil-3-(2-nitrofenil)propénsav származékok (8a és 8b) enantioszelektív kaszkád reakciója cinkonidinnel módosított Pd/ Al_2O_3 katalizátoron.

A keletkező telített aminokarbonsav (10) intramolekuláris amid képzéssel gyűrűt zár, ami megtörténhet a felületen is, de valószínűbb, hogy deszorpciót követően a folyadék fázisban játszódik le. Ez utóbbit alátámasztja a kiindulási nitroolefin nagyobb adszorpciós erőssége, ami elősegíti 10 deszorpcióját a fém felületéről. Az enantioszelektív hidrogénezést megelőző gyűrűzárást gátolja a C=C kötés *E* geometriája, így kizárható a 9 köztitermék enantioszelektív hidrogénezését megelőző gyűrűzárás. Mivel a 3-fenil gyűrűn *orto* helyzetben található szubsztituensek gátolják a hatékony kölcsönhatást a módosítóval, az így kifejlesztett és az 5. ábrán felvázolt heterogén katalitikus kaszkád reakció csak közepes enantioszelektivitásokat eredményezett (lásd a 4. ábrán), még a 2-fenil gyűrűn található *orto* szubsztituensek



5. Ábra. (E)-2-Fenil-3-(2-nitrofenil)propénsav (8) származékok enantioszelektív kaszkád reakciójának ábrázolása, ahol NR: nitro csoport redukció, EH: enantioszelektív hidrogénezés és GY: gyűrűzárás; fekete alapon a Pd felületen lejátszódó lépések.

jelenlétében is, amelyekről ismert, hogy kedvező hatással vannak a hidrogénezés enantioszelektivitására.³⁰⁻³³ Ennek ellenére a bemutatott eljárás az egyetlen ez idáig leírt Pd katalizált heterogén enantioszelektív kaszkád reakció.

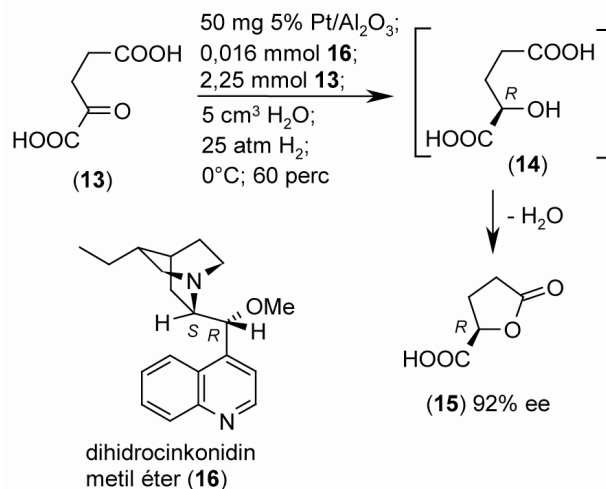
3. Aszimmetrikus kaszkád reakciók királisan módosított Pt katalizátoron

Aktivált ketonok hidrogénezése cinkona alkaloidokkal módosított Pt katalizátoron a legtöbbet vizsgált enantioszelektív heterogén katalitikus rendszer, amelyet felfedezőjéről gyakran Orito reakciónak neveznek.³⁵ Ebben a rendszerben kiváló enantioszelektivitással állíthatók elő α -hidroxi észterek a megfelelő α -keto észterek hidrogénezésével, de a reakció alkalmazhatóságát kiterjesztették más típusú aktivált keton hidrogénezésére is.^{13,16-18} Ennek a katalitikus rendszernek egy ismert és rendkívül kedvező sajátossága, hogy a királis módosító jelenlétében sokszor egy nagyságrenddel gyorsabb az aszimmetrikus hidrogénezés a racémhoz képest, amit a korábban már bevezetett úgynevezett „ligandum akcelerációval” értelmeztek, amely szerint a két lehetséges katalitikus ciklus közül az enantioszelektív gyors.³⁶ Ez a módosító és a kiindulási anyag kölcsönhatása miatt megváltozott adszorpciós erősséggel magyarázható.^{37,38} Ennek köszönhetően egyrészt kiemelkedő enantioszelektivitások (98% ee) érhetők el, másrészt egy aktivált keton aszimmetrikus hidrogénezése szelektív akár más reaktív funkciós csoport jelenlétében is. Így adódott lehetőség új heterogén katalitikus enantioszelektív kaszkád reakciók fejlesztésére.

3.1. 2-Ketoglutársav aszimmetrikus hidrogénezése módosított Pt katalizátoron.

A cinkona alkaloidokkal módosított Pt katalizátorokon 2-ketoglutársav diészterek hidrogénezése 2-hidroxi-glutársav diésztereket eredményezett kiváló enantioszelektivitással (93% ee).³⁹ A kapott termékek ugyan spontán nem, de egy a hidrogénezést követő lépésben sav katalizátor alkalmazásával, az enantiomer tisztaság megtartásával 5-oxo-tetrahidrofuran-2-karbonsav észterekké alakíthatók. Ezt követően bebizonyosodott, hogy 2-ketoglutársav (13) hidrogénezésével is hasonló enantioszelektivitás érhető el, de a kapott királis 2-hidroxi-glutársav (14) spontán gyűrűzárással 5-oxo-tetrahidrofuran-2-karbonsav (15) kinyerését teszi lehetővé, amint a 6. ábra mutatja.⁴⁰ Az így kifejlesztett heterogén katalitikus aszimmetrikus kaszkád reakció, amely egy enantioszelektív hidrogénezésből és az ezt követő intramolekuláris észter képzésből áll (7. Ábra), az első ilyen típusú reakció volt, amely kiváló enantiomer feleslegű (>90% ee) termék kinyerését tette lehetővé a megfelelő katalizátor és cinkona alkaloid származék (16) használatával akár vízben is. A kaszkád reakció második

lépése lejátszódhat a felületen vagy a hidrogénezett termék deszorpcióját követően a folyadékfázisban is, a reakció tanulmányozása nem terjedt ki ennek vizsgálatára.



6. Ábra. 2-Ketoglutársav (13) enantioszelektív átalakítása 5-oxo-tetrahidrofuran-2-karbonsavvá 16-al módosított Pt/Al₂O₃ katalizátoron.



7. Ábra. 2-Ketoglutársav kaszkád reakciója cinkona alkaloidokkal módosított Pt/Al₂O₃ katalizátoron, ahol EH: enantioszelektív hidrogénezés és GY: gyűrűzárás; fekete alapon a Pt felületen lejátszódó lépés.

3.2. 3-Hidroxi-3,4-dihidrokinolin-2(1H)-on származékok előállítás módosított Pt katalizátorokon

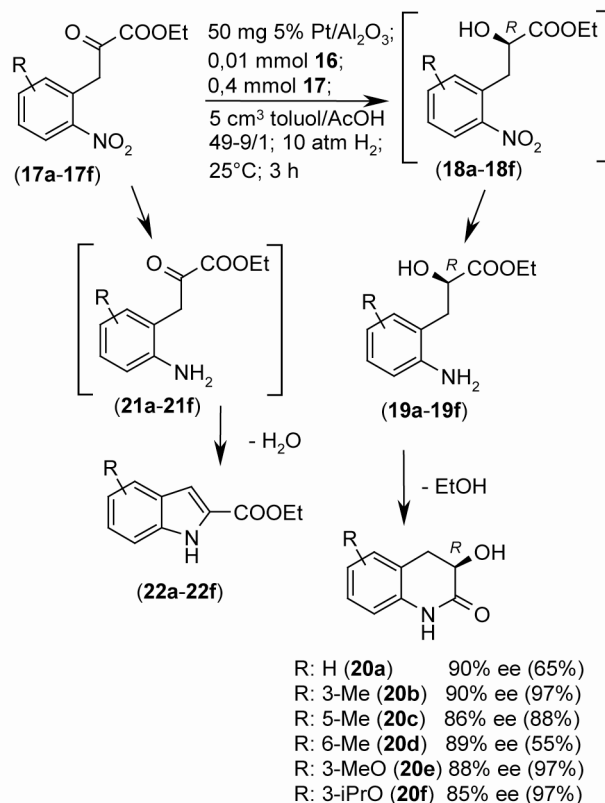
Egy hatékony aszimmetrikus heterogén katalitikus kaszkád reakció kifejlesztésének alapját japán kutatók eredményei szolgáltatták, akik 2-nitrofenilpiroszölősav észterek (17) hidrogénezését tanulmányozva PtO₂ katalizátoron a Reissert indol szintézis fő terméke (22) mellett a megfelelő 3-hidroxi-3,4-dihidrokinolin-2(1H)-on (20) származékokat kapták jelentős mennyiségben.⁴¹ Egyes szubsztituált származék reakciójában a termékek mennyisége meghaladta a 80–90%-ot. Ez alapján sikerült kidolgoznunk egy enantioszelektív heterogén katalitikus kaszkád reakciót, kihasználva a felület módosítóként használt cinkona alkaloidok hidrogénezést gyorsító hatását. A módosító jelenléte ugyanakkor lassította a 2-nitrofenilpiroszölősav észterek nitro csoportjának redukcióját, hiszen adszorpciója felületi aktív centrumokat foglalt el. E két hatás következtében a módosító jelentősen növelte a 20 származékok kitermelését. A keto csoport enantioszelektív hidrogénezését a nitro csoport redukciója követi, majd a keletkező 19 amino származékok gyűrűt zárva adták a 20 3-hidroxi-3,4-dihidrokinolin-2(1H)-on származékokat (8. Ábra). Bebizonyosodott, hogy a kaszkád reakció utolsó lépése, vagyis a gyűrűzárás is a fémfelületen játszódik le részben spontán, részben egy deszorpciót – újra adszorpciót követően. Ezt mutatta a nem gyűrűzárt melléktermék kinyerése és továbbalakulása Pt katalizátor jelenlétében akár hordozó nélküli Pt kormon is. Ennek megfelelően a kaszkád reakció a 9. ábrán látható módon játszódik le. A leghatásosabb ebben a reakcióban

is a **16** cinkona alkaloid származék bizonyult. Érdemes hangsúlyozni, hogy a cinkona alkaloidokkal módosított Pt katalizátorok alkalmasak rendkívül változatos aktivált ketonok enantioszelektív hidrogénezésére,^{13,17} aktivált benzil ketonokat nem tanulmányoztak ebben a rendszerben vagy csak kis enantioszelektivitást lehetett elérni.⁴² Azonban a kifejlesztett kaszkád reakció első lépésében **17** hidrogénezése kiváló enantioszelektivitással ment végbe, ami az *orto* helyzetű nitro csoport kedvező hatásának tulajdonítható.⁴³ E csoport irányító hatásának köszönhetően a felületen adszorbeált módosító és az aktivált keton között kialakuló kölcsönhatás lehetővé teszi akár 90%-os enantiomer felesleg értékek elérését.

Akivánt termék szelektivitását alapvetően az enantioszelektív hidrogénezés és a nitro csoport redukciójának egymáshoz viszonyított sebessége határozta meg. Gyors nitro csoport redukció Reissert féle szintézis szerinti **22** terméket eredményez. A nitro csoporttal szomszédos szubsztituensek csökkentik a redukció sebességét, így kedvező hatást gyakorolnak a **20** származék kitermelésére. Érdekessége a reakciónak, hogy a használt királis felületmódosítónak többszörös szerepe van, azaz irányítja a keto csoport hidrogénezését enantioszelektív téve azt, gyorsítja a keto csoport hidrogénezését és lassítja a nitro csoport redukcióját, mindezzel hozzájárulva a reakció kedvező irányú lejátszódásához. A módszer kiválóan alkalmazható 3-szubsztituált-2-nitrofenilpiroszölösav észterek (**17b**, **17e**, **17f**) átalakítására, amelyek szinte kizárólag a megfelelő 8-szubsztituált-3-hidroxi-3,4-dihidrokinolin-2(1*H*)-onok (**20b**, **20e**, **20f**) keletkezését eredményezik (8. Ábra).⁴³

4. Lehetőségek és kilátások

A finomvegyszer iparban bevezetett szigorú környezetvédelmi szabályozások, a természetes erőforrások hatékony kihasználása, az új szintézismódszerek hosszú távú fenntarthatósága és nem utolsósorban a nagy hozzáadott értéket képviselő intermedierek minél gazdaságosabb előállítása egyrészt újrahaználható, másrészt több irányú alkalmazást lehetővé tevő, kaszkád reakciókban használható katalizátorok kifejlesztésére helyezte a szerves kémiai kutatások hangsúlyát. Az aszimmetrikus szintézis módszerekben is várható az enantioszelektív katalitikus kaszkád reakciók elterjedése. Azonban amint ebből az áttekintésből is kitűnik erre a célra csak rendkívül kevés heterogén katalitikus rendszert sikerült eddig kifejleszteni. Ez jórészt az ismert enantioszelektív heterogén katalizátor rendszerek nagy szubsztrátum specifikusságának tulajdonítható illetve annak, hogy a hatékony kaszkád reakciók lépéseiben a jelenlévő funkciók csoportok reaktivitása között jól meghatározott különbség szükséges. Ennek ellenére az itt bemutatott sikeres alkalmazások irányadók lehetnek és várható más rendszerek kifejlesztése is a közeljövőben. Így a cinkona alkaloidokkal módosított Pt és Pd katalizátorok minden bizonnyal eddig nem vizsgált több funkciók csoportot tartalmazó vegyületek prokiralis enantioszelektív kaszkád reakcióiban is alkalmazhatók. Ugyanakkor nem lehet figyelmen kívül hagyni a borkósavval módosított Ni katalizátorok^{13,15} illetve a cinkona aminokkal vagy más királis diaminnal módosított Ru és Ir katalizátorok^{22,23} alkalmazásának lehetőségeit sem. Míg az első rendszer eddigi továbbfejlesztését a sokszor erőteljes



8. Ábra. 3-Hidroxi-3,4-dihidrokinolin-2(1*H*)-on (**20**) származékok előállítása 2-nitrofenilpiroszölösav észterekből **16**-al módosított Pt/Al₂O₃ katalizátoron (zárójelben az elért termelés).



9. Ábra. 2-Nitrofenilpiroszölösav észterek (**17**) enantioszelektív kaszkád reakciójának ábrázolása, ahol EH: enantioszelektív hidrogénezés, NR: nitro redukció és GY: gyűrűzárás; fekete alapon a Pt felületen lejátszódó lépések.

reakciókörülmények szüksége és ebből következően a különböző funkciók csoportok korlátozott tolerálása addig a második rendszerét a kereskedelmi vagy reprodukálhatóan előállítható, jól jellemzett és megbízható eredményeket adó katalizátorok hiánya gátolta eddig. E hiányosságok kiküszöbölése azonban rövid időn belül várható, az anyagtudomány gyors fejlődésének köszönhetően, ami új, kedvező tulajdonságú és sokirányú alkalmazást lehetővé tevő anyagok kifejlesztését eredményezi. További lehetőségek rejlenek nem az enantioszelektív hidrogénezésen, hanem más aszimmetrikus heterogén katalitikus reakciókon alapuló kaszkád reakciók kutatásában is. Bár csak néhány ilyen fémkatalizált reakció ismert, mint például a Pd katalizált hidrodehalogénezés, hidroformilezés vagy allil helyzetű alkilezés,¹³ ezek alkalmazása aszimmetrikus heterogén kaszkád reakciók egyik lépéseként ugyancsak elképzelhető. Végül nem lehet elsiklani az egyre nagyobb számú királisan módosított szilárd bázis és savkatalizátorok (elsősorban szervetlen oxidok, mezo- és mikopórusos szilikátok és réteges vagy nanoszerkezetű anyagok) felett sem,⁴⁴ amelyek ígéretes katalizátor jelöltek új aszimmetrikus heterogén katalitikus kaszkád reakciók kifejlesztésére.

Köszönetnyilvánítás

Köszönet az OTKA (OTKA K 109278) és a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047 kutatásainkhoz nyújtott anyagi támogatásáért. A kutatás az Európai Unió és Magyarország támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretei között valósult meg.

Hivatkozások

- Ojima, I.; Ed. *Catalytic Asymmetric Synthesis*, 3rd ed., John Wiley & Sons: Hoboken, New Jersey, **2010**.
- Gruttaduria, M.; Giacalone, F.; Eds. *Catalytic Methods in Asymmetric Synthesis*, John Wiley & Sons: Hoboken, New Jersey, **2011**.
- Albrecht, L.; Jiang, H.; Jørgensen, K. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 8492–8509.
- Zhang, W.-H.; Chien, S. W.; Hor, T. S. A. *Coord. Chem. Rev.* **2011**, *255*, 1991–2024.
- Pellissier, H. *Recent Developments in Asymmetric Organocatalysis*, RSC Publishing, Cambridge, **2010**.
- Tietze, L. F.; Brasche, G.; Gericke, K. M.; Eds. *Domino Reactions in Organic Synthesis*, Wiley-VCH: Weinheim, **2006**.
- Pellissier, H. *Adv. Synth. Catal.* **2012**, *354*, 237–294.
- Clavier, H.; Pellissier, H. *Adv. Synth. Catal.* **2012**, *354*, 3347–3403.
- Grondal, C.; Jeanty, M.; Enders, D. *Nature Chem.* **2010**, *2*, 167–178.
- Lu, L.-Q.; Chen, J.-R.; Xiao, W.-J. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 1278–1293.
- Ding, K.; Uozumi, Y.; Eds. *Handbook of Asymmetric Heterogeneous Catalysis*, Wiley-VCH: Weinheim, **2008**.
- Šebesta, R.; Ed. *Enantioselective Homogeneous Supported Catalysis*, RSC Publishing: Cambridge, **2012**.
- Mallat, T.; Orglmeister, E.; Baiker, A. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4863–4890.
- Deiana, L.; Afewerki, S.; Palo-Nieto, C.; Verho, O.; Johnston, E. V.; Córdova, A. *Sci. Reports* **2012**, *2*, art no:851.
- Osawa, T.; Harada, T.; Takayasu, O. *Curr. Org. Chem.* **2006**, *10*, 1513–1531.
- Murzin, D. Yu.; Mäki-Arvela, P.; Toukonniitty, E.; Salmi, T. *Catal. Rev.* **2005**, *47*, 175–256.
- Bartók, M. *Curr. Org. Chem.* **2006**, *10*, 1533–1567.
- Margitfalvi, J. L.; Tálas, E. In *Catalysis*; Spivey, J. J.; Dooley, K. M., Eds.; RSC Publishing: Cambridge, **2010**; Vol. 22, pp 144–278.
- Tungler, A.; Sípós, É.; Háda, V. *Curr. Org. Chem.* **2006**, *10*, 1569–1583.
- Nitta, Y. *J. Synth. Org. Chem. Jpn.* **2006**, *64*, 827–835.
- Szőllősi, Gy. *Magyar Kém. Foly.* **2007**, *113*, 145–152.
- Jiang, H.; Chen, H.; Li, R. *Catal. Commun.* **2010**, *11*, 584–587.
- Jiang, H.; Yang, C.; Li, C.; Fu, H.; Chen, H.; Li, R.; Li, X. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 9240–9244.
- Aboulhoda, S. J.; Hénin, F.; Muzart, J.; Thorey, C.; Behnen, W.; Martens, J.; Mehler, T. *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, *5*, 1321–1326.
- Aboulhoda, S. J.; Létinois, S.; Wilken, J.; Reinert, I.; Hénin, F.; Martens, J.; Muzart, J. *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, *6*, 1865–1868.
- Muzart, J.; Hénin, F.; Aboulhoda, S. J. *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 381–389.
- Roy, O.; Riahi, A.; Hénin, F.; Muzart, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 3986–3994.
- Detalle, J.-F.; Riahi, A.; Steinmetz, V.; Hénin, F.; Muzart, J. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 6528–6532.
- Kukula, P.; Matoušek, V.; Mallat, T.; Baiker, A. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 2699–2708.
- Szőllősi, Gy.; Hermán, B.; Felföldi, K.; Fülöp, F.; Bartók, M. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2008**, *290*, 54–59.
- Szőllősi, Gy.; Hermán, B.; Felföldi, K.; Fülöp, F.; Bartók, M. *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 2804–2814.
- Szőllősi, Gy.; Hermán, B.; Szabados, E.; Fülöp, F.; Bartók, M. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2010**, *333*, 28–36.
- Szőllősi, Gy. *Catal. Lett.* **2012**, *142*, 345–351.
- Szőllősi, Gy.; Bartók, M. *ARKIVOC* **2012**, (v), 16–27.
- Orito, Y.; Imai, S.; Niwa, S. *Nippon Kagaku Kaishi* **1979**, 1118–1120.
- Garland, M.; Blaser, H.-U. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7048–7050.
- Balázsik, K.; Szőri, K.; Szöllősi, Gy.; Bartók, M. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 1551–1552.
- Szőllősi, Gy.; Makra, Zs.; Fekete, M.; Fülöp, F.; Bartók, M. *Catal. Lett.* **2012**, *142*, 889–894.
- Balázsik, K.; Szőri, K.; Felföldi, K.; Török, B.; Bartók, M. *Chem. Commun.* **2000**, 555–556.
- Felföldi, K.; Szőri, K.; Bartók, M. *Appl. Catal. A: Gen.* **2003**, *251*, 457–460.
- Suzuki, H.; Gyoutoku, H.; Yokoo, H.; Shinba, M.; Sato, Y.; Yamada, H.; Murakami, Y. *Synlett* **2000**, 1196–1198.
- Török, B.; Balázsik, K.; Szöllősi, Gy.; Felföldi, K.; Bartók, M. *Chirality* **1999**, *11*, 470–474.
- Szőllősi, Gy.; Makra, Zs.; Kovács, L.; Fülöp, F.; Bartók, M. *Adv. Synth. Catal.* **2013**, *355*, 1623–1629.
- Choudary, B. M.; Ranganath, K. V. S.; Pal, U.; Kantam, M. L.; Sreedhar, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13167–13171.

Enantioselective cascade reactions catalyzed by chirally modified metal surfaces

Due to the widespread use of optically pure intermediates in the fine chemical and especially in the pharmaceutical industry, during the last decades the organic chemistry research has been focused on developing new stereoselective synthetic methods. As a result of these efforts several asymmetric catalytic procedures have been developed, which tried to match new and severe requirements imposed to modern synthetic methods. The chiral catalysts used were either metal complexes bearing chiral ligands or optically pure organic molecules, so-called organocatalysts. Many of the chiral catalysts could be applied in several types of reactions, which opened the possibility of using them in one-pot cascade reactions. Recent trends of applying sustainable, environmentally friendly,

atom-economic procedures even in the production of specialty chemicals resulted in increasing efforts oriented to develop novel heterogeneous asymmetric catalytic systems. Immobilization on solid supports of known and efficient homogenous chiral catalysts, even if their performances were preserved, carries the disadvantage of cumbersome and costly preparation procedures, which diminishes the advantages brought by applying heterogeneous catalyst. More conveniently, asymmetric heterogeneous catalysts are obtained by modification of catalytically active metal surfaces by optically pure chiral compounds. Such catalysts were used successfully mostly in enantioselective hydrogenations, such as the hydrogenations of β -keto esters, activated ketones or olefins

and aromatic ketones using modified Ni, Pt, Pd, Ru or Ir catalysts. However, few of these chirally modified metal catalysts could be applied in asymmetric cascade reactions. This review gives an account on the attempts of developing asymmetric heterogeneous catalytic cascade reactions in which the stereoselective step occurs on a chiral surface.

It is known since a long time the high activity of supported Pd catalysts in hydrogenation, hydrogenolysis, isomerization and C–C coupling reactions. Moreover, prochiral unsaturated carboxylic acids are hydrogenated in good enantiomeric excesses over Pd catalysts modified by cinchona alkaloids. Thus, there are not surprising the efforts of using chirally modified Pd catalysts in heterogeneous cascade reactions. The first example of such reaction was reported by Muzart and co-workers, who prepared optically enriched 2-alkylketones from α -substituted- β -keto benzyl or allyl esters using as catalysts Pd/C in the presence of chiral aminoalcohols. The cascade reaction was initiated by hydrogenolysis of the ester group, which was followed by decarboxylation and asymmetric tautomerization. Although, initially was suggested that the final enantioselective step may occur both on the modified surface and in the liquid phase, recently Baiker and co-workers demonstrated that this step is catalyzed by the chiral base in the liquid phase. However, the above method had a historical importance, being the first asymmetric cascade reaction over heterogeneous catalyst. A second asymmetric cascade reaction over Pd catalyst was developed by us, having in sight the performances of these catalysts in the enantioselective hydrogenation of (*E*)-2,3-diphenylpropenoic acid derivatives when modified by cinchonidine. Examining the hydrogenation of 3-(2-nitrophenyl)-substituted acids the enantioselective formation of 3-phenyl-3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-ones was observed. In this cascade reaction the initial reduction of the nitro group was followed by the enantioselective hydrogenation of the prochiral olefinic double bond and the resulted amino-functionalized saturated acid cyclized to the hydroquinoline-2(1*H*)-one derivative by intramolecular amidation. Although, the cascade reaction provided the corresponding products in quantitative yields the obtained optical purities were moderate, due to the disadvantageous steric effect of the *ortho*-substituents on the 3-phenyl moiety on the interaction between cinchonidine and the unsaturated acid.

The most extensively studied asymmetric heterogeneous catalytic system is based on Pt catalysts modified by cinchona alkaloid derivatives. Excellent enantioselectivities could be obtained with this chiral catalyst in the enantioselective hydrogenation of activated ketones. Among these 2-ketoglutaric acid diesters was hydrogenated in over 90% ees. The products were transformed in a subsequent acid catalyzed reaction in 5-oxotetrahydrofuran-2-carboxylic acid esters. Interestingly, the reaction of 2-ketoglutaric acid provided directly the optically enriched 5-oxotetrahydrofuran-2-carboxylic acid in quantitative yield. High enantioselectivities were also obtained in this enantioselective hydrogenation – cyclization cascade even in water. Further application of the

cinchona alkaloid-modified Pt catalyst was developed recently based on a previous publication of Murakami and coworkers, who observed the formation of 3-hydroxy-3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-one derivatives in their attempt to synthesize indole derivatives by hydrogenation of 2-nitrophenylpyruvic esters over PtO₂ using H₂. Exploiting the acceleration of the enantioselective hydrogenation of activated ketones by cinchona alkaloids we attempted to increase the yield of these valuable side products and obtain optically enriched compounds by carrying out the reaction over modified supported Pt catalyst. During this cascade reaction the first step was the enantioselective hydrogenation of the activated keto group followed by the reduction of the nitro group. Finally, the desired hydroquinoline-2(1*H*)-one resulted by intramolecular amidation of the optically enriched amino-substituted hydroxyl-ester. High, up to 90%, enantioselectivities were obtained, though in the hydrogenation of the previously studied benzyl activated ketone only low optical purities were achieved. This was explained by the favorable effect of the nitro group on the stereospecific interaction between the modifier and the substrate on the metal surface. It was also shown that even the final cyclization step occurs on the Pt surface either spontaneously or by desorption–readsorption process. The first two steps of the cascade reaction are competitive steps, thus the yields of the desired product could be influenced by factors affecting their rates of these steps. High hydroquinoline-2(1*H*)-one yields afforded derivatives bearing substituents next to the nitro group due to hindrance of the reduction of this group. It must be noted that in this asymmetric heterogeneous catalytic cascade reaction the cinchona alkaloid used as modifier has multiple role. On one hand induced enantiodifferentiation, on the other accelerated the enantioselective hydrogenation. Moreover its presence on the metal surface decreases the reduction rate of the nitro group and as a consequence improves the yield of the target product.

Finally it should be noted that these successful asymmetric heterogeneous catalytic cascade reactions, mostly developed by our research group, may be regarded as pioneering examples for the preparation of optically pure intermediates by economic, environmental friendly and sustainable procedures. Accordingly, it is expected that in the near future other cascade processes using asymmetric heterogeneous catalysts will be developed. Among the promising candidates for such applications are besides the cinchona-modified Pt and Pd catalysts, the chiral diamine-modified Ru and Ir in reactions in which the stereoselective step is an enantioselective hydrogenation. However, it shouldn't be neglected other enantioselective reactions catalyzed by chirally modified solid catalysts, such as allylic alkylations over modified Pd catalysts or asymmetric C–C coupling reactions catalyzed by inorganic oxides, micro- and mesoporous materials, layered and nano materials modified by optically pure organic compounds. The applications of these solid catalysts could be a future trend in developing novel heterogeneous catalytic cascade reactions for application in the production of optically pure organic intermediates.

Többfalú szén nanocsövek előállítása és széleskörű felhasználása az Alkalmazott Nanocső Technológia kutatócsoportban

FEJES Dóra,^a RÉTI Balázs,^a NÉMETH Krisztián,^a BERKI Péter,^a NÉMETH Zoltán^a és
HERNÁDI Klára^{a,*}

^aSzegedi Tudományegyetem, Alkalmazott és Környezeti Kémia Tanszék, Rerrich Béla tér 1., 6720 Szeged, Magyarország

1. Bevezetés

A Szegedi Tudományegyetem Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszékén működő, Hernádi Klára által vezetett Alkalmazott Nanocső Technológia (Applied Nanotube Technology, ANT) kutatócsoport – hazai és külföldi partnerekkel kiegészülve – már lassan 20 éve foglalkozik különböző formájú szén nanocsövek szintézisével, valamint szén nanocső-alapú kompozitanyagok előállításával, és azok széleskörű felhasználási lehetőségeinek vizsgálatával. Cikkünk e csoport munkáját kívánja röviden bemutatni.

2. Az ANT-csoport munkájáról

2.1. Szén nanocsövek szintézise

A szén nanocső nem más, mint egy tökéletes hengerré csavart, egyetlen atom vastagságú grafitréteg, azonban sokféle, eltérő tulajdonságú szén nanocső létezik. A többfalú szén nanocsövek (MultiWalled Carbon NanoTube, MWCNT) több koncentrikusan elhelyezkedő egyfalú szén nanocsőből állnak. Elsőként Iijima 1991-ben számolt be a többfalú szén nanocsövek létezéséről.¹ A felhasználáshoz nagyon jól definiált tulajdonságokkal, morfológiával kell rendelkeznie az anyagnak, így a gyakorlati alkalmazás szükséges feltétele általában a szelektív szintézis.

A Szegedi Tudományegyetem Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszékén 1995 óta folynak kutatások a szén nanocsövek katalitikus szintézisének területén. A szén nanocsöveket sokféle módszerrel elő lehet állítani, a legelterjedtebb módszer a szén nanocsövek szintézisére a széntartalmú vegyületek jellemzően néhány nanométeres fém nanorészecskén - általában kobalt, nikkel vagy vas -² történő katalitikus bontása. A CCVD (Catalytic Chemical Vapor Deposition) eljárás lényege, hogy valamilyen hordozós fémkatalizátor jelenlétében nem túl magas hőmérsékleten (általában 700–900 °C) bontanak szénhidrogént, nagyon gyakran acetilént.³ A CCVD technikával a többi módszerhez képest relatíve alacsony hőmérsékleten lehet előállítani szén nanocsöveket. Ezek szerkezete azonban – gyakran feltehetőleg éppen az alacsony előállítási hőmérséklet miatt – kevésbé tökéletes, sok „hibahelyet” tartalmaznak. A szén nanocsövek morfológiájuk szerint nemcsak egyenesek,⁴ hanem bambuszszerűek⁵ és spirálisak is lehetnek.⁶ Ez utóbbiak előállítása - jelenlegi ismereteink szerint - kizárólag CCVD módszerrel történhet. Szelektív szintézisük mind a mai napig világszerte jelentős kihívás a kutatók számára. Kísérleteink során az ammónia-oldattal (25%) történő nagyenergiájú nedves őrléssel (golyósmalomban) előállított

katalizátorok hatékonyabbnak bizonyultak a spirális szén nanocső növesztésben,⁶ mint az impregnálással készültek.

2.2. Szén nanocső alapú nanokompozitok előállítása

A kompozitanyagok olyan heterogén rendszerek, melyeket két vagy több eltérő kémiai összetételű (és morfológiájú) anyag kombinációjával hoznak létre úgy, hogy az egyik alkotót (vagy alkotókat) egy mátrix-anyagba diszpergálják. A folytonos mátrix a diszperz fázist teljesen körbeveszi, és magába foglalja, épp ezért a két fázis határfelülete döntő fontossággal bír a kialakult kompozit tulajdonságainak szempontjából.

Ezen keverékanyagok előállításának célja nem más, mint hogy valamely alkotóelem hasznos tulajdonságát felerősítsük, vagy bizonyos esetekben új, az eredeti alkotókra nem jellemző tulajdonságokkal bíró anyagot állítsunk elő. A legtöbb esetben a kompozitok létrehozásával a kiindulási anyagok mechanikai tulajdonságainak (pl. merevség, keménység) javítása a cél (pl. szénszállakkal erősített műanyagok), de akár az elektromos- vagy hővezetőképesség is nagymértékben befolyásolható.

Az utóbbi időkben egyre több kémiai kutatás foglalkozik a szén nanocsövek, és a különböző polimerek (pl. polietilén, polipropilén, stb.) vagy fém-oxidok (pl. ón-dioxid, titán-dioxid, stb.) kombinációjával létrehozott nanokompozitok előállításával.⁸ A szén nanocsövek kiválóan alkalmazhatók diszperz részként a kompozit-szintézis során, mivel a rugalmassági modulusuk, illetve a hosszúság/átmérő arányuk is igen kedvező, a legtöbb reakciókörülmény között inerte, valamint kémiai és mechanikailag is igen stabilak. Speciális elektromos tulajdonságaik is kiemelkedő fontosságúak pl. fém-oxidokkal történő kombinációjukkal létrehozott bevonatos kompozitok készítése esetén. Fontos azonban megemlíteni, hogy az előállítás során használt nanocsövek felületének minél tisztábbnak kell lennie, ugyanis az esetleges szennyezők – mint például az amorf szén – meggátolhatják, hogy erős kölcsönhatás alakuljon ki a szén nanocső és a mátrix között, ezáltal nem megfelelő stabilitású terméket eredményezve.

A kompozitok egyik csoportja az ún. bevonatos anyagok, melyek esetében például az alapanyagra felvitt szervesetlen réteg segítségével a kialakult termék felületének nedvesíthetősége sokkal jobb lesz, mint a kiindulási anyagoké. Előállításukhoz leggyakrabban az impregnációs vagy szol-gél módszert, illetve az autoklávban történő hidrotermális/szolvotermális szintézist alkalmazzák.

* Tel.: +36-62/544-626; fax: +36-62/544-619 ; e-mail: hernadi@chem.u-szeged.hu

Az impregnálás lényegében a fémtartalmú prekursorok a nanocsövek felületére való felvitelét jelenti. Első lépésként a szintézis során használt prekursor – az előállítani kívánt termék tömegarányából visszaszámolt mennyiségben – oldatfázisba kell vinni, majd a kompozit mátrix-anyagával – amiből előtte a megfelelő oldószerben ultrahangos ráztatás segítségével finom szuszpenziót kell készíteni – el kell keverni úgy, hogy minél homogénebb keveréket kapjunk. Ezután a kapott keveréket melegíteni kell, és a bepárlás során a hordozóanyag eltávolításra kerül, miközben a prekursor megtapad a mátrix felületén.⁸ Ennek a technikának nagy előnye, hogy az anyagok előállítása alacsony hőmérsékleten (szobahőmérséklet) történhet, valamint lehetőség van organikus és inorganikus vegyületek beágyazására egyaránt. A bepárlást követően a kapott terméket legalább 24 órára szárítószekrényben kell helyezni az összes oldószermaradvány eltávolítása céljából, majd a kompozit-anyag végső kialakítása magasabb hőmérsékleten történő hőkezeléssel (általában 300-400°C-on, de esetenként akár 1000°C-on is) fejeződik be.

A szolvo- vagy hidrotermális módszer szintén igen népszerű technika nanoszerkezetű anyagok előállítására. Első lépésként általában a prekursor-anyagból (a megfelelő oldószer segítségével) oldatot készítenek, majd ezt követően egy teflonbetétes acél autoklávban összekeverik a prekursor-oldatot a mátrix-anyagból készített szuszpenzióval. A lezárt autoklávot kemencébe helyezve a megfelelő hőmérsékleten lejátszódik a kompozit-szintézis. Az eljárás legfőbb előnye az, hogy jól alkalmazható a legtöbb szilárd anyagra, ugyanis elegendően nagy nyomáson és hőmérsékleten a megfelelő oldószer segítségével szinte bármely anyag oldatba vihető.⁹ E technika esetében is a kompozit-anyag végső kialakítása általában hőkezeléssel fejeződik be.

A szén nanocső-alapú fém-oxidos nanokompozitoknak számos felhasználási lehetősége létezik. Nagymértékben kutatott például az efféle anyagoknak a fotokatalízisben történő alkalmazási lehetőségei,¹⁰ valamint különböző kémiai vagy biológiai szenzorokhoz való felhasználhatóságuk is.¹¹ Azt, hogy a szintézis során milyen morfológiájú felületi réteget alakítanak ki, nagymértékben befolyásolhatja az előállított termék jövőbeli felhasználása is, mivel ettől függően kialakítható szeparált (nano)részecskékként történő borítás,¹² valamint teljesen homogén felületi bevonat.^{8,13,14}

Kutatócsoportunk sikeresen kombinálta már a többfalú szén nanocsöveket számos fém-oxiddal (pl. ZnO, TiO₂, SnO₂, WO₃, In₂O₃, Al₂O₃, Fe₂O₃).^{8,10-14} Ezen anyagok előállításához általában valamilyen halogéntartalmú (pl. InCl₃, WCl₆, SnCl₄·xH₂O) vagy épp szerves prekursor (pl. Ti(OiPr)₄, Zn(O₂CCH₃)₂·xH₂O) használtunk. Kijelenthető, hogy bár minden ilyen jellegű kompozit esetében hasonló előállítási módszereket alkalmaztunk, nincs egy teljesen egységes módszer, eltérő szintézisparaméterek (pl. tömegarány, oldószer, hőkezelési hőmérséklet, stb.) szükségesek a különböző fém-oxidok felviteléhez a szén nanocsövek felületére. Kompozit-anyagaink jellemzésére számos, az anyagkutatásban széleskörűen használt technikát alkalmazunk, úgymint elektronmikroszkópokat (TEM és SEM), Raman-mikroszkópot, röntgendiffraktometriát (XRD), energiadiszipperzív röntgenanalízist (EDX), valamint termogravimetriás vizsgálatot (TG) és fajlagos felület-

meghatározást (BET) is. Az általunk előállított szén nanocső alapú kompozitanyagok nagy lehetőséget hordoznak magukban, mind a jövőbeli gáz-szenzorok tesztelése,¹¹ mind pedig a katalízis területén.¹²

2.3. Szén nanocső alapú polimer mátrixú kompozitok szintézise

A műanyagok széles körben használatosak kompozitok előállításánál, melyek a műszaki célú szerkezeti anyagok legkorszerűbb csoportját képezik. A szerkezeti elemek terhelése nem minden esetben azonos a tér minden irányában. Az igénybevétel jól meghatározott irányban vagy irányokban, meghatározott erővonalak mentén jelentkezik. Ezért előnyös és fontos a homogén anyagok megerősítése nagy szilárdságú anyagokkal.

A polimer mátrix módosítása sok esetben szervesen vegyületek beépítésével történik. A polimer technológiában gyakran alkalmaznak úgynevezett töltőanyagokat, hogy csökkentsek például a poliészter gyanta zsugorodását, befolyásolják a gélesedési és kikeményedési időt valamint befolyásolják a kikeményedett gyanta mechanikai tulajdonságait. A polimerek tulajdonságainak növelése többfalú szén nanocsövek segítségével is lehetséges. A szén nanocsövek rugalmassági modulusuk mellett kedvező átmérő – hossz aránnyal rendelkeznek, ezért a polimer kompozitok egyik ígéretes adalékának számítanak. A szén nanocsövek segítségével például elektromosan vezetővé tehetik a különböző szigetelő polimereket.^{15,16} Azonban a többfalú szén nanocsövek mechanikai tulajdonságait a gyakorlatban nem mindig könnyű kihasználni a különleges alakjuk és a köztük ható Van der Waals erők miatt. A szén nanocsövek erősen apoláros jellegű anyagok, felületük nem tartalmaz funkcionális csoportokat, amelyek kölcsönhatásba léphetnének a polimerrel, ezért a polimer mátrix és a szén nanocső közötti megfelelő kölcsönhatás érdekében a többfalú szén nanocsövek felületét kémiai vagy fizikai úton meg kell változtatnunk. Tehát a kompozitok előállításának alapvető feltétele a szén nanocsövek homogén eloszlása a mátrixban. A szén nanocsövek diszperziójának növelésével elkerülhető az agglomerátumok képződése, ezáltal a többfalú szén nanocső – polimer kompozitok mechanikai tulajdonságainak romlása.

Kutatócsoportunk többek között többfalú szén nanocsövek szervesen-oxid kompozitjainak műanyag töltőanyagként való alkalmazásával foglalkozik. A műanyagiparban az egyik legnépszerűbb töltőanyag a kémiaiilag rendkívül inert talkum ([Mg₃(Si₄O₁₀(OH)₂)₂]). A magnézium-szilikát hidroxid nem oldódik vízben, savban és lúgban sem, ezért felvitele ebben a formában a szén nanocsövek felületére nem lehetséges. Kísérleteink során azon magnézium és szilícium tartalmú prekursorok megtalálása a cél, melyek vízben vagy szerves oldószerben jól oldódnak, ezáltal lehetőség nyílik a szén nanocsövek felületén a SiO₂-MgO bevonat kialakítására, megkönnyítve ezzel a többfalú szén nanocsövek polimer mátrixba bekeverését.¹⁷

A többfalú szén nanocsövek felületén az SiO₂-MgO réteget szol-gél valamint szolvotermális eljárással állítottuk elő. Kísérleteink során 5g össztömegű mintából indultunk ki, melynek szén nanocső tartalmát 1-15 tömegszázalék között változtattuk. Szilícium prekursorként tetraetil-

ortoszilikátot, magnéziumforrásként magnézium-klorid hexahidrátot ($\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$), magnézium-nitrát hexahidrátot ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$) valamint magnézium-etoxidot ($\text{MgO}_2\text{C}_4\text{H}_{10}$), oldószerként metanolt alkalmaztunk. A szol-gél szintézis első lépéseként a többfalú szén nanocsöveket metanolban 15 percig ultrahangos szonikáló kád segítségével felszuszpendáltuk. Következő lépésként az oldószerben előzetesen feloldott prekursorokat állandó kevertetés mellett lassan csepegtetve adagoltuk a többfalú szén nanocső szuszpenzióhoz. Ezt követően a szuszpenziót 2 órán keresztül szobahőmérsékleten kevertettük, majd az oldószer 65°C-on elpárologtattuk. A szolvotermális eljárás során a többfalú szén nanocső-prekursor szuszpenziót egy 150 ml-es teflonbetétes acélautoklávba töltöttük, majd 24 órára 120°C-on szárítószekrénybe helyeztük. A 24 óra elteltével mintáinkat vákuumszűrő segítségével leszűrtük, végül 65°C-on szárítószekrényben kiszáritottuk. Mintáinkat a szintéziseket követően 4 órán át 400°C-on statikus kemencében, levegő atmoszférában hőkezeltük, annak érdekében, hogy a szén nanocsövek felületén lévő szervesetlen kristályos réteg kialakulhasson. Ezt követően nanokompozitjainkat transzmissziós elektronmikroszkópos- és pásztázó elektronmikroszkópos, röntgendiffrakciós (XRD), és Raman spektroszkópiás technikákkal vizsgáltuk.

Az elektronmikroszkópos vizsgálatokból kiderült, hogy a szol-gél technikát és $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ prekursor alkalmazva kísérleteink nem voltak sikeresek. A többfalú szén nanocsövek felületén nem figyeltünk meg homogén bevonatot. A szén nanocsövek többsége fedetlen maradt, csak az 1 és 10 tömegszázalék szén nanocsövet tartalmazó mintáink felületén figyeltünk meg szegregált nanorészecskéket a szén nanocsövek felületén. Ugyanez nem volt elmondható a $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ és a $\text{MgO}_2\text{C}_4\text{H}_{10}$ prekursorokkal készített mintáink esetében. Az elektronmikroszkópos felvételek alapján ezen mintáinkban már nem figyeltünk meg fedetlen szén nanocsöveket. A többfalú szén nanocsövek részleges vagy teljes befedettsége volt megfigyelhető. Hasonló eredményeket figyeltünk meg a szolvotermális eljárással készült mintáink elektronmikroszkópos felvételein, ahol mintáink szintén nem tartalmaztak csupasz szén nanocsöveket. A képződött szervesetlen oxidréteg kristálytani jellemzésére röntgendiffrakciós vizsgálatokat végeztünk. A röntgendiffraktogramon a többfalú szén nanocső reflexiói mellett nagyon jól megfigyelhetőek voltak a szilícium-dioxidra és a magnézium-oxidra jellemző reflexiók.

Kísérleteink utolsó lépéseként nanokompozitjainkat egy Brabender GNF106/2 típusú keverő segítségével olvadékkeveréses módszerrel polietilén polimerbe kevertük. A bekeverés során az 50 gramm polimerbe a 0,5 gramm többfalú szén nanocsövet 5 perces keverési idő, 40 fordulat/perces motorsebesség és 180°C-os olvasztási hőmérsékletet megválasztásával kevertük be. Az 5 perces keverési idő elteltével a mintatartóból eltávolítottuk a polimer ömledéket, majd azt egy prés segítségével $115 \times 115 \times 1$ mm-es formákba préseltük. Az elkészült többfalú szén nanocső/polimer kompozitjainkat pásztázó elektronmikroszkóppal vizsgáltuk, mely felvételeken nagyon jól látható, hogy kísérleteink sikeresek voltak.

A jövőben dinamikus mechanikai analízis illetve szakítópróba módszerekkel kívánjuk vizsgálni a többfalú szén nanocső/polietilén kompozitjaink mechanikai tulajdonságait.

2.4. Szén nanocsövek és nanokompozitok felhasználása a fotokatalízis területén

Napjaink környezeti problémáinak megoldása egyre sürgetőbb és fontosabb, így megfelelő és hatékony eljárások, technológiák használata igen fontos. Kulcskérdés a vizekben és levegőben lévő szerves szennyezőanyagok ártalmatlanítása. A folyton szigorodó előírások miatt egyre hatékonyabb eltávolítási módszerek kidolgozása vált szükségessé. A nagyhatékonyságú oxidációs eljárások (Advanced Oxidation Process, AOP) lehetővé teszik, hogy akár egyéb módszerekkel szemben ellenálló, vagy azokra káros hatással lévő szennyezőket is eltávolíthassunk. A nagyhatékonyságú oxidációs eljárások alapja, hogy valamilyen módon reaktív szabad gyököket generálnak (általában hidroxilgyökök, szuperoxid-gyökök), amelyek nem szelektíven oxidálják a szennyezőanyagokat. A folyamat végére lehetséges a vízzé, szén-dioxiddá és egyéb szervesetlen ionokká történő oxidáció.

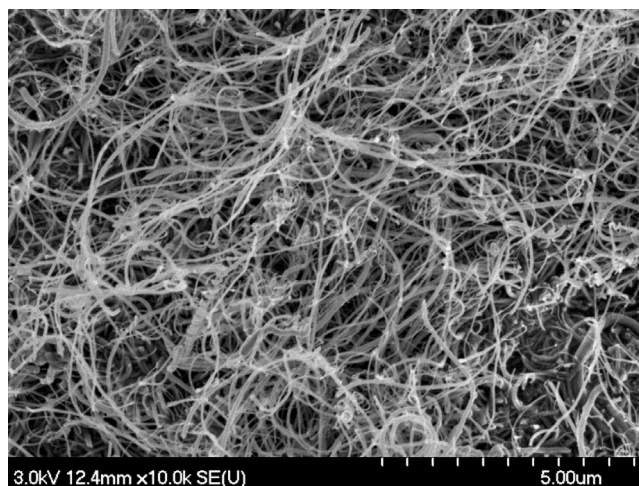
A nagyhatékonyságú oxidációs eljárások egyik dinamikus fejlődő ága a heterogén fotokatalízis. Ilyen területen először az 1960-as években kezdtek dolgozni és az első publikációk között kell megemlíteni Honda és Fujishima¹⁸ 1972-ben megjelent cikkét, amelyben TiO_2 segítségével végrehajtott vízbontásról számolnak be. A fotokatalitikus folyamatok a következő séma szerint mennek végbe. Egy félvezető részecskét, ha megvilágítunk a tiltott sávjánál nagyobb energiájú fénnyel, akkor a részecske vegyérték sávjából a vezetési sávjába gerjesztünk egy elektront (e^-), míg a vegyértékszámban elektron hiány, ún. lyuk (h^+), keletkezik. Létrejött egy töltéspár. Ez a töltéspár utána rekombinálódhat – mely számunkra kedvezőtlen folyamat – vagy migrálhat a felületre, csapódhat különböző, erre alkalmas helyeken. A felületen lévő e^- és h^+ részt vehet redox folyamatokban, így az elektron redukálhatja míg a lyuk oxidálhatja a megfelelő reakciópartnert. Általában a fotokatalitikus folyamatokban nanoméretű félvezető fém-oxid részecskéket használnak fel (pl.: TiO_2 , SnO_2 , ZnO).¹⁹ Egyes esetekben a nanorészecskék fotokatalitikus aktivitása tovább fokozható valamilyen más anyag hozzáadásával, nanokompozitok létrehozásával. A szén nanocsövek különleges szerkezetükből adódó speciális mechanikai és elektromos tulajdonságaik révén képesek szinergikus hatást kifejteni, mely javíthatja a félvezető nanorészecskék fotokatalitikus hatékonyságát.²⁰ A pontos hatásmechanizmus nem felderített, mert egy nagyon bonyolult rendszerről van szó. Több elmélet is létezik, ám egyik elméletet sem tudták eddig kétséget kizáróan alátámasztani, így a szerzők általában csak spekulációba bocsátkoznak.

A kutatócsoportban többfalú szén nanocsövekkel alkotott, valamilyen TiO_2 alapú kompozit fotokatalizátorok előállításával, karakterizálásával és fotokatalitikus aktivitásuk vizsgálatával foglalkozunk. Általában szol-gél vagy hidrotermális, ritkábban szolvotermális előállítást használunk, majd, ha szükséges, hőkezeléssel kristályosítjuk az anyagot. Ezt használjuk fel utána a fotokatalitikus tesztreakciókban, melyeket egy általunk tervezett reaktorban hajtunk végre UVA megvilágítás mellett ($\lambda_{\text{max}} \sim 365$ nm).

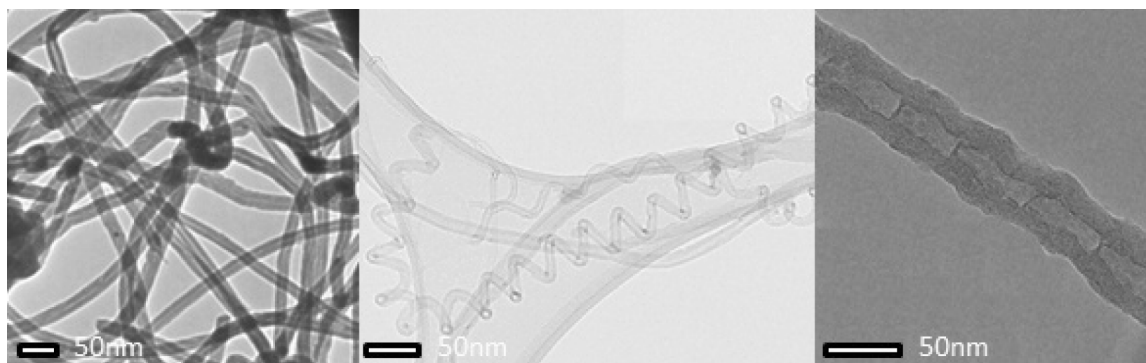
A csoport többek között vizsgálta különböző tömegszázalékban MWCNT-t tartalmazó TiO_2 /MWCNT kompozit fotokatalizátorok szubsztrát függő fotokatalitikus

aktivitását.¹⁰ Meghatározott arányban összemért Ti-prekursor (titan-izopropoxid), sósavval savanyított desztillált víz és etanol elegyből történt az előállítás ($n(\text{Ti}): n(\text{H}_2\text{O}): n(\text{etanol}) = 1:3:30$). Ebben az elegyben volt szuszpendáltatva a MWCNT. Az elegy gélesztése, szárítása és 400°C -on 4 órás levegőn történő hőkezelés után megkaptuk a kész fotokatalizátort, amely 0, 1, 5, 10 tömegszázalékban tartalmazta a MWCNT-eket (a 0 tömeg% referenciaként szolgál, mert az csak TiO_2 -t tartalmaz). A fotokatalizátorok karakterizálása transzmissziós elektron mikroszkóp, Raman spektroszkópia, röntgen diffraktometria, és UV-látható spektroszkópia segítségével történt. Ezen vizsgálatok eredményei alapján kiderült, hogy sikerült azonos szerkezetű mintákat előállítani. Titán-dioxid nanorészecskéket kötöttünk a MWCNT-ek felületére. Természetesen a MWCNT-k mellett előfordulnak a TiO_2 nanorészecskék is. A mintákban található nanorészecskék méreteloszlása nagyjából egységesnek mondható, az átlagos átmérő 10-12 nm. A Raman spektroszkópiás és röntgen diffrakciós mérések bebizonyították, hogy a mintában anatóz fázisú kristályos titán-dioxid van jelen. A szilárd minták UV-látható spektroszkópiás vizsgálata azt mutatta, hogy a MWCNT-ek hozzáadásával egyre nagyobb a minta elnyelő képessége a látható tartományban és a $\text{TiO}_2/10\%$ MWCNT mintánál az abszorpció megegyezik a tiszta MWCNT spektrumával. Ezek után a mintákat fenol és oxálsav lebontási kísérletekben teszteltük UVA megvilágítás alatt, HPLC-s koncentráció meghatározással. Ezek alapján megállapítható, hogy a minták fotokatalitikus aktivitása eltérő a különböző

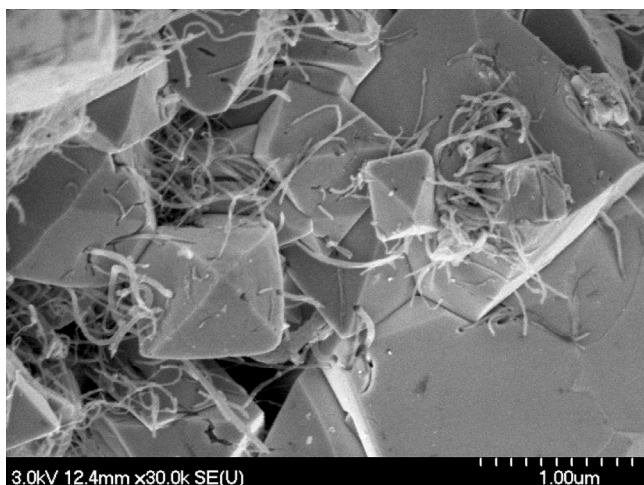
szubsztrátok esetében. Ennek magyarázata a különböző adszorpciós tulajdonságokkal magyarázható. Míg az oxálsav felületi komplex kialakítására képes a Ti(IV) ionokkal és így közvetlenül oxidálódhat a fotogenerált lyukak által, addig a fenol nem képes ilyen kölcsönhatás kialakítására és csak közvetett módon lehetséges oxidációja. Megfigyelhető továbbá hogy a magas MWCNT tartalom negatív hatással van a fotokatalitikus aktivitásra mindkét bontandó anyag esetében, viszont egy optimum is megfigyelhető, amely már igen is függ a modellvegyületünk karakterétől.



1. Ábra. A többfalú szén nanocsövekről készült SEM felvétel.



2. Ábra. Többfalú, spirális és bambuszszerű szén nanocsövekről készült TEM felvételek.



3. Ábra. $\text{In}_2\text{O}_3/\text{MWCNT}$ nanokompozitról készült SEM felvétel.

A fenol esetében ez az optimum 1 tömeg% körül lehet, míg oxálsav esetén ez 5 tömeg% körülinek adódott. Kiderült az is, hogy az oxálsav esetében az általunk előállított nanokompozit fotokatalitikus aktivitása meghaladja a kereskedelmi forgalomban kapható és oly sokszor referenciaként használt Evonik Aeroxid P25 fotokatalizátor aktivitását. Ezek alapján elmondhatjuk, hogy lehetséges többfalú szén nanocsövekkel aktivitásnövekedést elérni, viszont az aktivitás függ a bontandó mintavegyületünk anyagi minőségétől is.

3. Összegzés

A fentiek alapján elmondható tehát, hogy kutatócsoportunk - hazai és nemzetközi partnereinkkel - kiegészülve mélyrehatóan tanulmányozza a különböző szén nanostruktúrák előállítási és felhasználási lehetőségeit. Munkánkkal kívánunk hozzájárulni mind az anyagkutatás mind a szénkémia ütemesebb fejlődéséhez.

Köszönetnyilvánítás

A kutatócsoport bemutatott munkája a Swiss Contribution SH/7/2/20 számú projekt támogatásával valósult meg.

Hivatkozások

- Iijima, S. *Nature* **1991**, 354, 56.
- Fonseca, A.; Hernadi, K.; Piedigrosso, P.; Colomer, J.F.; Mukhopadhyay, K.; Doome, R.; Lazarescu, S.; Biro, L.P.; Lambin, P.; Thiry, P.A.; Bernaerts, D.; Nagy, J.B. *Appl. Phys. A: Mat. Sci. and Proc.* **1998**, 67, 11-22.
- Couteau, E.; Hernadi, K.; Seo, J.W.; Thien-Nga, L.; Mikó, Cs.; Gaál, R.; Forró, L. *Chem. Phys. Lett.* **2003**, 378, 9-17.
- Hernadi, K.; Fonseca, A.; Piedigrosso, P.; Delvaux, M.; Nagy, J.B.; Bernaerts, D.; Riga, J. *Catal. Lett.* **1997**, 48, 229-238.
- Kecsenovity, E.; Fejes, D.; Reti, B.; Hernadi, K. *Phys. Status Sol. B* **2013**, 250, 2544-2548.
- Fejes, D.; Hernadi, K. *Materials* **2010**, 3, 2618-2642.
- Fejes, D.; Forró, L.; Hernadi, K. *Phys. Stat. Sol. B* **2010**, 247, 2713-2716.
- Németh, Z.; Dieker, C.; Kukovecz, Á.; Alexander, D.; Forró, L.; Seo, J.W.; Hernádi, K. *Comp. Sci. and Techn.* **2011**, 71, 87-94.
- Xia, Y.; Yang, P.; Sun, Y.; Wu, Y.; Mayers, B.; Gates, B.; Yin, Y.; Kim, F.; Yan, H. *Adv. Mat.* **2003**, 15, 353-389.
- Réti, B.; Mogyorósi, K.; Dombi, A.; Hernádi, K. *Appl. Catal. A-Gen.* **2013**, 469, 153-158.
- Aroutiounian, V.M.; Adamyan, A.Z.; Khachaturyan, E.A.; Adamyan, Z.N.; Hernadi, K.; Pallai, Z.; Nemeth, Z.; Forró, L.; Magrez, A.; Horvath, E. *Sens. and Act. B* **2013** Chem. 177, 308-315.
- Berki, P.; Németh, Z.; Réti, B.; Berkesi, O.; Magrez, A.; Aroutiounian, V.; Forró, L.; Hernadi, K. *Carbon* **2013**, 60, 266-272.
- Németh, Z.; Markó, K.; Erdőhelyi, A.; Forró, L.; Hernadi, K. *Phys. Stat. Sol. B* **2011**, 248, 2480-2483.
- Vass, A.; Berki, P.; Németh, Z.; Reti, B.; Hernadi, K. *Phys. Stat. Sol. B* **2013**, 250, 2554-2558.
- Andrews, R.; Weisenberger, M.C. *Curr. Op. in Sol. Stat. and Mat. Sci.* **2004**, 8, 31-37.
- Ding, W.; Eitan, A.; Fisher, F.T.; Chen, X.; Dikin, D.A.; Andrews, R.; Brinson, L.C.; Schadler, L.S.; Ruoff, R.S. *Nano Lett.* **2003**, 3, 1593-1597.
- Nemeth, K.; Reti, B.; Posa, M.; Belina, K.; Hernadi, K. *Phys. Stat. Sol. B* **2012**, 12, 2333-2336.
- Honda, K.; Fujishima, A. *Nature* **1972**, 238, 37-38.
- Gaya, U.I.; Abdullah, A.H. *J. Photochem Photobiol. C* **2008**, 9, 1-12.
- Wang, W.; Serp, P.; Kalck, P.; Faria, J.L. *Appl. Catal. B* **2005**, Environ. 56, 305-312.

Preparation and application of multiwalled carbon nanotubes in the research group Applied Nanotube Technology

Introduction

The Applied Nanotube Technology (ANT) research group – led by Klara Hernadi – focuses upon the synthesis, characterisation, modification and application of multiwalled carbon nanotubes.

About the work of the group ANT

Synthesis of carbon nanotubes

Since the discovery of multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs) in 1991, several methods have been reported for the synthesis of carbon nanotubes. The CVD route for nanotube production has become a popular method to make large amounts of multiwall carbon nanotubes. The structure, morphology and size of carbon materials depend critically on the catalyst preparation and deposition conditions. According to current knowledge, CVD method is the only process which can produce carbon nanocoils, as well. Based on theoretical studies, regular coiled nanotubes exhibit exceptional mechanical, electrical, and magnetic properties due to the combination of their peculiar helical morphology and the fascinating properties of nanotubes; in spite of its technological interest, relatively low attention has been paid to this special field.

Preparation of nanocomposites based on MWCNTs

In our group we prepare multiwalled carbon nanotube (MWCNT)/metal-oxide composites using impregnation method or solvothermal synthesis. The produced materials are characterized by X-ray diffraction, energy-dispersive X-ray spectroscopy, Raman spectroscopy, and transmission and scanning electron microscopy. Specific surface area measurement and thermogravimetric analysis are executed also. These multiwalled carbon nanotube-based composites are promising candidates as gas sensors and catalyst. Due to the intense linking between MWCNT and covering metal-oxide compounds, it is hoped that the selectivity and the sensitivity

of gas sensors based on these composite materials will be more effective than other devices based on only the pure metal-oxides because of the synergic combination of the materials.

SiO₂ / MgO coated multiwalled carbon nanotubes in polymer composites

Comparing the coated materials, it can be concluded that using magnesium-nitrate hexahydrate and magnesium-ethoxide precursors resulted more homogeneous coverage compared to the MgCl₂ × 6H₂O. In the presence of magnesium-chloride hexahydrate, homogeneous coating could not be observed. It has been shown that by varying the content of MWCNT, the more homogeneous coating can be prepared by higher carbon nanotube content. Reinforcing effect of carbon nanotubes in a polymer matrix strongly depends on surface interaction between them. Using MWCNT of highly graphitic character and “smooth” surface can hinder this influence. Thus, coverage with SiO₂-MgO layer (chemically similar to commercially used talc-like filler) might have a significant role in conveying mechanical properties of MWCNTs. With controllable formation of inorganic coating we hope to prepare new type of nanocomposite-polymer materials having incredible mechanical properties.

TiO₂/MWCNT composite photocatalysts

Titanium dioxide multiwall carbon nanotube (TiO₂/MWCNT) composite photocatalysts were synthesized by the hydrolysis of titanium containing precursor adsorbed on the surface of MWCNT. In order to obtain crystalline material from the titania oxide-hydroxide annealing was. XRD and Raman investigations showed that only anatase-phase titanium dioxide is present in the samples. Usually this is the preferred phase for photocatalytic investigations as it is more active than all other TiO₂ phases. TEM micrographs revealed that the prepared photocatalysts have

well defined structures; the MWCNTs were decorated with TiO_2 nanoparticles. The prepared photocatalysts were tested in aqueous-phase photocatalytic reactions using sol-gel prepared TiO_2 as references. The concentration of the model compounds (phenol and oxalic acid) was followed by HPLC technique. The results showed

that photocatalytic activity does depend on the model compound and the percentage of MWCNT content. The sample containing 5 weight% MWCNT was the most efficient for oxalic acid decomposition under UV irradiation while the sample containing 1 weight% MWCNT performed the best in phenol decomposition under our experiment conditions.

Heterogenizált Fe(ftalocianin) katalizátor előállítása és alkalmazása oxidációs és redukciós reakciókban

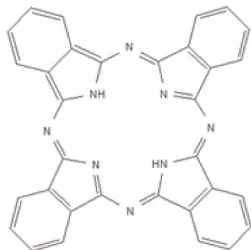
BATA Péter,^{a,*} NOTHEISZ Ferenc,^a Peter KLUSON^b és ZSIGMOND Ágnes^a

^aSzegedi Tudományegyetem, Szerves Kémiai Tanszék, Dóm tér 8., 6720-Szeged, Magyarország

^bInstitute of Chemical Process Fundamentals, Academy of Sciences of the Czech Republic, Rozvojova 135 / 2, 165 02-Prague, Czech Republic

1. Bevezetés

A ftalocianin néven ismert makrociklusos molekulákat az 1930-as években írták le először.¹ Ez idő óta számos érdekes és hasznos alkalmazásuk terjedt el egyedülálló fizikai és kémiai tulajdonságaiknak köszönhetően.² Alapvázukat tekintve a porfirinvázak vegyületek közé tartoznak, ahol a 4 pirrol gyűrű négy metin csoporton keresztül síkszerű gyűrűvé kapcsolódik össze, az egész molekulára kiterjedő konjugált, aromás kettőskötés- rendszert kialakítva, mely a nagyfokú stabilitást eredményezi.



1. Ábra. A ftalocianin ligandum szerkezeti képlete.

A porfirinvázak vegyületek a központi fématom jellege szerint különböztethetők meg egymástól.^{3,4} A két vegyértékű fém(ftalocianin)-ok katalitikus tulajdonságait annak köszönhetik, hogy a síknégyzetes molekula ötödik és hatodik axiális pozíciója szabad, így két extra ligandumot tudnak koordinálni, amelyek lehetnek elektron donorok és akceptorok egyaránt.²

A fém(ftalocianin)-ok széles körben vizsgált katalizátorok a különböző szerves vegyületek, mint például fenolok, alkánok, alkének és tilok oxidációs reakcióiban. A leggyakrabban alkalmazott oxidálószer a fenti katalizátorok jelenlétében a hidrogén-peroxid és a terc- butil-hidroperoxid.^{5,6,7} Tekintettel arra, hogy a ftalocianinok nem toxikusak, katalizátorként felhasználhatóak például az ipari szennyvizek oxidációs úton történő ártalmatlanítására. A különböző fotoxidációs reakciókban való felhasználásuknak az a kitüntetett tulajdonságuk nyitott utat, hogy megfelelő hullámhosszúságú fény abszorpciójának hatására a közönséges molekuláris oxigénből (O_2) igen reaktív szingulett oxigént (1O_2) képesek előállítani. Fontos megjegyezni, hogy csak azok a ftalocianinok képesek ilyen reaktív ágenszt létrehozni, amelyek lezárt héjjal rendelkező központi fématomot tartalmaznak (Al^{3+} , Si^{4+} , Zn^{2+}). A csak részlegesen feltöltött d-pályával rendelkező fém-ionokat (Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+}) tartalmazó ftalocianinok a gerjesztett hármas állapot hirtelen kioltására törekszenek, így nem képesek a fenti jelenség előidézésére.⁸⁻¹³

* e-mail: PBata@MOL.hu

Katalizátorok heterogenizálása során a homogén katalízisben már bevált komplexeket rögzítik valamilyen hordozón az újrafelhasználhatóság és a könnyebb kezelhetőség érdekében. A homogén komplexek heterogenizálásának egyik módja a „hajó a palackban” típusú katalizátorok előállítása. Az üreges szerkezetű hordozók közül a zeolitok felelnek meg leginkább komplexek beépítésének, mert háromdimenziós csatornarendszerük miatt viszonylag egyszerű a komplexek beépítése, ugyanakkor a reakció során a reaktánsok könnyen hozzájuthatnak a katalizátorhoz. Az üregek belsejében kialakított fémkomplexek nincsenek kötással rögzítve a zeolit belső falához, ennek ellenére nem képesek kijutni a nagyüregből, a komplexnek a csatorna átmérőjénél nagyobb méreténél fogva.¹⁴ Az előállítás egyik módja, hogy a zeolit üregeiben alakítják ki a komplexet, ún. belső komplexképzéssel vagy belső ligandumszintézissel. A másik lehetőség, hogy a már meglévő komplex köré építik ki magát a zeolitot.¹⁵⁻¹⁷ A homogén komplexek heterogenizálásának egy nemrégiben kidolgozott eljárása, a komplex rögzítése kémiai kötással egy tetszőleges hordozó felületéhez. A fenti eljárást Augustine és munkatársai fejlesztették ki, és a lényege, hogy a hordozó és a komplex közé egy olyan anyagot iktatnak be, amely megköti a homogén komplexet és el is választja azt, a merev felülettől. Kötőanyagnak heteropolisavat alkalmaztak, amelyek közül a leggyakrabban használt a foszforwolfrámsav volt, a leggyakrabban használt hordozók pedig különböző agyagásványok, szén, alumínium-oxid stb.¹⁸

Az aldehidek és ketonok karbonilcsoportjának redukciója fémkatalizált transzferhidrogénezéssel (CTH) egy kitűnő szintetikus eljárás, amely megfelelő hidrogén donor segítségével a kiindulási vegyületekből alkoholokat állít elő.¹⁹ A CTH reakció egy elegáns alternatívája a hidrogén gázzal történő hidrogénezési reakcióknak, ez utóbbi nehézségeit - mint például a nagynyomású berendezések, a hidrogén gáz tárolása - kiküszöbölve, számos esetben már hatékonyan alkalmazzák. Hidrogénforrásként olyan szerves molekulák, mint szénhidrogének, primer és szekunder alkoholok, hangyasav és sói alkalmazhatók a CTH reakciókban.²⁰⁻²¹ Napjaink egyik komoly kihívása a már bizonyítottan aktív katalizátorokban található drága átmeneti fémek, mint Rh, Ru helyettesítése olcsóbb és könnyebben elérhető fémekkel, mint például a vassal és nikkellel. Számos közlemény található az irodalomban, amely igazolja, hogy a különböző vaskomplexek alkalmasak lehetnek erre a feladatra. Igen jó eredményeket értek el a különböző diiminodifoszfín ligandumot tartalmazó vaskomplexekkel, amelyekben az oldószer és egyben a hidrogénforrás is propán-2-ol volt.²²⁻²⁵

Vas tartalmú porfirinkomplexeket alkalmaztak már különbözőképpen szubsztituált ketonok transzferhidrogénezésében figyelemre méltó eredménnyel, amely kísérleti tény felkeltette kutatócsoportunk érdeklődését is a téma iránt.²⁶⁻²⁷ Tekintettel arra, hogy kutatócsoportunk régóta foglalkozik a különböző fém(ftalocianin)-ok előállításával, immobilizálásával és katalitikus alkalmazásával.

2. Kísérleti rész

2.1. Homogén katalizátorok előállítása

A nikkel, réz, kobalt és vas tartalmú ftalocianin komplexeket [Fe(Pc)] a következőképpen állítottuk elő: a fémek kloridjait és ftálsav-dinitril 1:4 molarányú keverékét nitrobenzolban 6 órán keresztül refluxáltuk 478 K-en, katalitikus mennyiségű ammónium-molibdenát jelenlétében, gondoskodva a folyamatosan keletkező ammónia elvezetéséről. A kivált szilárd komplexet szűrtük, a nyers terméket mostuk metanollal és végül koncentrált kénsavval tisztítottuk.

A másik előállítási módszer a mikrohullámú eljárás, amely nem használ oldószert, viszonylag egyszerű és gyors. Az eljárás során a fémek kloridjait és a ftálsav-dinitril 1:4 molarányban, egy főzőpohárban összekeverjük majd a mikrohullámú készülékben 750 W teljesítményen a keveréket megolvasztjuk, és mindaddig folytatjuk a reakciót, míg az egész keverék fekete-sötétkék színű nem lesz. Lehűlés után a terméket finom porrá őröltük és acetonnal a komplexátlatlan ligandumot kiextraháltuk. A szilárd terméket szűrtük és szárítottuk. Végül az állandó aktivitás érdekében tömény kénsavból átkristályosítottuk.

2.2. Heterogenizált katalizátorok előállítása

2.2.1. Felülethez kötéssel

Az Augustine módszer szerint egy háromnyakú gömbömbikban 1,5 g Al_2O_3 -at szuszpendáltunk 30 ml metanolban majd 386,7 mg (0,15 mmol) foszforwolfrámsavhidrát 25 ml metanolos oldatát, folyamatos kevertetés mellett, argon atmoszféra alatt az alumínium-oxid szuszpenzióhoz csepegtettük. A kevertetést még további 1 napig folytattuk, majd ülepítés után a folyadékfázist eltávolítottuk és friss 30 ml metanollal ismét szuszpendáltuk a szilárd maradékot. Végül 0,1 mmol fém(ftalocianin)-t oldottunk fel 40 ml dimetilformamidban és lassan hozzácsepegtettük az $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_3[\text{P}(\text{W}_3\text{O}_{10})_4] \cdot x\text{H}_2\text{O}$ szuszpenzióhoz, majd további 1 napon át kevertettük, szintén argon atmoszférában. Ülepítés után a folyadékfázist eltávolítottuk, majd a szilárd maradékot addig mostuk metanollal, míg szintelen mosófolyadékot nem kaptunk. A kapott kék szilárd anyagot szárítottuk 2 órát vákuum alatt 25 °C-on és további 1 napot szárítószekrényben.

2.2.2. Zeolitba építéssel

A Fe(Pc)-komplex beépítését belső ligandum szintézissel hajtottuk végre, Ar atmoszféra alatt. A Fe^{2+} -tartalmazó zeolitot ioncserével állítottuk elő, a következőképpen: 3 órán keresztül 50 °C-on 2 g NaY zeolitot és 40 ml 1 N $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ vizes oldatát kevertettük. Az ioncserélt zeolitot kiszűrtük és mostuk ioncserélt vízzel. Ezt követően a zeolit, 2 g ftálsav-dinitril és 3 g difenil keverékét 478 K-

re hevítettük és az olvadékat 4 órán át Ar atmoszférában kevertettük, majd szobahőmérsékletre hűtöttük. A terméket Soxhlet-extraktorban extraháltuk acetonnal 48 órán keresztül, hogy eltávolítsuk az el nem reagált prekursorokat és a zeolit felületén kialakult komplexet. Ezt követően telített NaCl oldattal a nem komplexálódott Fe^{2+} ionokat cseréltük vissza Na^+ ionokra 24 órán keresztül. Végül a kész katalizátort egy éjszakán át szárítottuk, ily módon átlagosan 2 g terméket kaptunk.

2.3. A katalizátorok jellemzése

A felülethez rögzített és a zeolitba zárt Fe(Pc)-katalizátorok fém tartalmát JOBLIN YVON ICP-AES készülékkel határoztuk meg, salétromsavas mintaelőkészítés után. A komplexet a hordozó felületén, illetve a zeolit belsejében FT-IR spektroszkópiával azonosítottuk, Bio-Rad FTS-65 típusú spektrofotométerrel. A spektrumot KBr pasztillában vettük fel. Az Al_2O_3 -ra rögzített komplex esetében elektronmikroszkópos felvételt is készítettünk, Hitachi 520 SEM mikroszkóppal. A NaY zeolit XRD spektrumának felvételével a belső komplexképzés előtt és után, a zeolit szerkezetének változatlanóságáról kívántunk megbizonyosodni. A vizsgálatot a Philips PW - 1830 röntgen-diffraktométerrel végeztük.

2.4. A reakciók kivitelezése

2.4.1. A 4-klórfehol oxidatív bontása

A reakció során 50 ml 2×10^{-4} mol/l-es ($n_{4\text{-Cp}} = 1 \times 10^{-5}$) koncentrációjú 4-klórfehol vizes oldatához adtunk 5 mg Fe(Pc)-t ($n_{\text{Fe(Pc)}} = 8,8 \times 10^{-6}$ mol) vagy 150 mg immobilizált Fe(Pc)-komplexet. A reakciót szobahőmérsékleten és atmoszférikus nyomáson hajtottuk végre, mágneses keverővel történő kevertetés mellett, fénytől védve, hogy kizárhassuk a katalizátorok fotokatalitikus befolyását. Az analízis HPLC-vel történt RP-18 állófázisú kolonnán, a mozgófázis stacionárius 50:50-es arányú víz/metanol elegy, a detektálás hullámhossza pedig 282 nm volt.

2.4.2. Aldehydekek és ketonok katalitikus transzferhidrogénezése

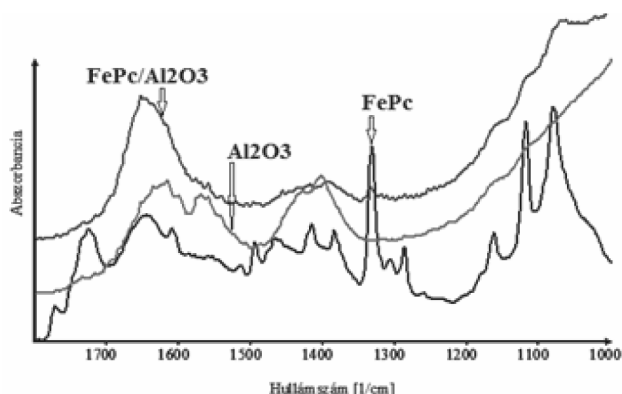
Egy 5 ml-es Schlenk-edénybe 1 ml propán-2-olhoz 0,0038 mmol Fe(Pc)-t adtunk és a reakcióelegyet átöblítettük Ar-nal. Ezt követően 0,19 mmol NaOH 0,5 ml propán-2-ollal és 0,38 mmol kiindulási anyag (aldehid vagy keton) szintén 0,5 ml propán-2-ollal készített oldatát injektáltunk a Schlenk-edénybe. A reakcióelegyet 80 °C-ra melegítettük és 6 vagy 12 órán keresztül mágneses keverővel kevertettük. A reakció végén az elegyet hagyjuk lehűlni szobahőmérsékletre és rövid SiO_2 oszlopon tisztítottuk. A termék-analízis gázkromatográffal, HP1 kolonnával, szobahőmérsékleten történt, a termékek azonosítása pedig standard összehasonlító anyagokkal illetve GC-MS technikával.

3. Eredmények és értékelésük

3.1. A katalizátorok jellemzése

A homogén közegben felhasznált Fe(Pc)-komplexet oldószertmentes körülmények között állítottuk elő mikrohullámú berendezésben (l: kísérleti rész). A kapott komp-

lexet FT-IR spektroszkópiával jellemeztük, a spektrumot KBr pasztillában felvéve. A kapott spektrum a ftalocianin jellegzetes csúcsait mutatta (1515, 1494, 1333, 1164, 1118 és 1081 cm^{-1}) (2. ábra).

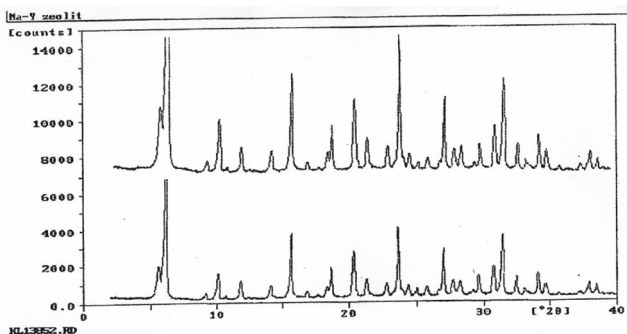


2. Ábra. A „szabad” és a rögzített Fe(Pc)-komplex, valamint Al_2O_3 hordozó FT-IR spektruma.

A komplex felülethez kötését Augustine módszerével hajtottuk végre, kötőanyagként foszforwolfrámsavat használva. A heterogenizált katalizátort szintén jellemeztük FT-IR spektroszkópiával. A jellemzés során felvettük a „szabad” komplex, a hordozó és a heterogenizált minta spektrumát, majd a fenti spektrumokat összehasonlítva azt tapasztaltuk, hogy a rögzített komplex is a ftalocianin-ligandum jellegzetes elnyeléseit mutatta, utalván arra, hogy a felülethez rögzített komplex a Fe(Pc).

A komplextartalom meghatározása ICP-AES technikával történt, cc. salétromsavas mintaelőkezelés után. Tekintettel arra, hogy a zeolitba beépített komplex esetén a nem komplexálódott Fe^{2+} ionokat visszacseréltük Na^+ ionokra, a meghatározott Fe^{2+} mennyiségét a bezárt komplex mennyiségével vettük azonosnak. Ez az adat a felülethez kötött komplex esetén 35,8 $\mu\text{mol Fe/g}$, míg a beépített komplex esetében 42,0 $\mu\text{mol Fe/g}$ volt.

A „ship-in-a-bottle” módszerrel előállított katalizátor esetén XRD felvételekkel ellenőriztük az esetleges változásokat a zeolit szekezetében. A komplex beépítése előtt és után felvett XRD spektrumok összehasonlítása, a zeolit szerkezetének változatlanságára utaltak (3. ábra).

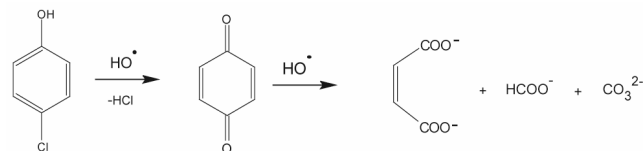


3. Ábra. A NaY zeolit XRD spektruma a komplex beépítése előtt és után.

3.2. A 4-klórfehol oxidatív bontása

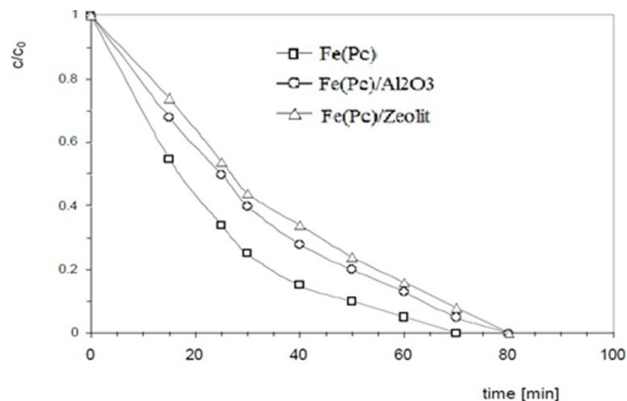
A 4-klórfehol (4-Cp) oxidatív degradációjának vizsgálatára 8 különböző központi fémme (Fe, Ni, Co, Zn, Si, Cu,

Ti, Al) rendelkező ftalocianin-katalizátort és hidrogén-peroxidot, mint oxidálószer alkalmaztunk. Az átalakulást a 4-klórfehol koncentráció-csökkenésével követtük. Az egyes katalizátorok esetében azt tapasztaltuk, hogy a kocentráció gyakorlatilag változatlan maradt, kivéve a Fe(Pc)-t, amely esetében egy kb. 25 %-os csökkenést észleltünk. Ez azt jelenti, hogy a különböző ftalocianin-komplexek közül a Fe(Pc) volt a legaktívabb. A különböző oxidálószer-összehasonlítások a Fe(Pc) alkalmazása során azt tapasztaltuk, hogy a terc- butil-hidroperoxiddal (TBHP) teljes konverzió érhető el.



4. Ábra. A 4-klórfehol oxidatív degradációjának folyamata és végtermékei.

A homogén fázisú vizsgálatainkat követően a heterogenizált katalizátoraink aktivitását teszteltük. Együttal összehasonlítottuk a kétféle – felülethez rögzítés és a zeolitba beépítés - immobilizálási módszer hatékonyságát is. A homogén közegben optimálisnak talált reakciókörülményeket alkalmaztuk heterogén körülmények között is (5. ábra), de hosszabb reakcióidővel dolgoztunk.



5. Ábra. A 4-klórfehol oxidációja homogén és heterogenizált Fe(Pc)-katalizátorokkal.

Az 5. ábrán láthatjuk, hogy a heterogenizált katalizátoraink is aktívak voltak a 4-klórfehol oxidatív lebontásában, az alkalmazott hosszabb reakcióidővel. A homogén komplex kb. 70 a heterogenizált komplexek pedig 80 perc alatt bontották le a 4-klórfeholt. Az 1. táblázatban a heterogén katalizátorok komplextartalmát és a 15. percen mért konverzió értékek alapján számolt TOF értékeket láthatjuk.

Amint a táblázatból kitűnik a TOF összehasonlításával, a felületre rögzített komplex fajlagos aktivitása egy kicsit magasabb volt, mint a homogén komplexé. Ezt a tényt valószínűleg a Fe(Pc) rossz oldékonysága ill. a rögzített komplexnek az a tulajdonsága magyarázza, hogy a rögzítés miatt nem képes dimerizálódni, ami az aktivitásvesztést okozhatja homogén közegben.

A két heterogenizált komplex aktivitását összehasonlítva azt állapíthatjuk meg, hogy a görbék lefutása (5. ábra) nagyon hasonló volt. A fajlagos aktivitás tekintetében a TOF

1. Táblázat. A 4-klórfehol oxidációja homogén és heterogenizált Fe(Pc)-komplexezen.

Katalizátorok	Fe(Pc) [mol]	Degradáció [%]	TOF [h ⁻¹]
Fe(Pc)	8,8 x 10 ⁻⁶	45	2,04
Fe(Pc)/Z	6,3 x 10 ⁻⁶	26	1,65
Fe(Pc)/Al ₂ O ₃	5,4 x 10 ⁻⁶	32	2,38

Reakciókörülmények: 25 °C, 50 ml 2x10⁻⁴ mol/dm³ koncentrációjú 4-klórfehol oldat, Fe(Pc) 5 mg, Fe(Pc)/hordozó: 150 mg, 0,2 ml TBHP

összehasonlításával azt láthatjuk, hogy a felületen rögzített komplex aktívabb volt, mint a zeolitba épített. Ezt a kísérleti tapasztalatot a zeolitba épített komplexnek a 4-klórfehol számára nehezebb hozzáférhetőségével magyarázhatjuk.

A heterogenizálás egyik fontos célkitűzése az újra felhasználás, melyet egyszerű szűréssel és reakcióban való ismételt felhasználással lehet végrehajtani. Mindkét típusú katalizátor esetében kétszeri újrafelhasználást vizsgáltunk meg és megállapítottuk, hogy a zeolit belsejébe zárt komplex esetében az első használat utáni aktivitás csökkenés stabilizálódik a további újrafelhasználások során, míg a felülethez rögzített katalizátor esetében az aktivitáscsökkenés folyamatos volt. Ez a tény valószínűleg a rögzített komplex kismértékű leoldódásával értelmezhető. Ez a kísérleti tény sajnos kedvezőtlenül befolyásolja a vizsgált reakció gyakorlati alkalmazhatóságát, ami a különböző klórozott fenolszármazékok eltávolítását jelenti a szennyvizekből. Így a jelenleg rendelkezésünkre álló kísérleti adatok alapján a zeolitba beépített heterogenizált katalizátor gyakorlati felhasználása valószínűsíthető.

3.3. A katalitikus transzferhidrogénezés vizsgálata

A már igen széles körben vizsgált katalitikus transzferhidrogénezés továbbfejlesztésének egyik új kihívása a drága átmeneti fémek, mint Rh, Ru helyettesítése olcsóbb, könnyebben beszerezhető katalizátorokkal. Ennek a gondolatnak a jegyében vizsgáltuk meg a Fe(Pc)-komplex alkalmazását a CTH reakciókban. Célul tűztük ki a karbonil csoport hidrogénezését, vagyis aldehidek és ketonok redukcióját. Az aldehidek közül a benzaldehid, a ketonok közül pedig az acetofenon transzferhidrogénezésében először a bázis, a hőmérséklet, a katalizátor mennyiségének valamint a reakcióidőnek az optimalizálását hajtottuk végre. Ezt követően az optimális körülmények között különbözőképp szubsztituált benzaldehid és acetofenon származékok redukcióját vizsgáltuk a megfelelő alkohollá.

3.3.1. Aldehidek és ketonok katalitikus transzferhidrogénezése

A 2. táblázatból láthatjuk, hogy a különböző aldehidek esetén a Fe(Pc) jól katalizálja a CTH reakcióit. Kiemelkedően nagy konverziót értünk el a szubsztituálatlan és az elektronküldő csoportokkal szubsztituált benzaldehid esetében (2. és 7. minta) csakúgy, mint a 4-klór-benzaldehidnél (6. minta). Az elektronvonzó csoporttal szubsztituált nitro-benzaldehidek közül a para- helyzetű adta a legnagyobb, míg az orto- helyzetben szubsztituált a legkisebb konverziót (3., 4. minta), ami nagy valószínűséggel a konjugáció különböző mértékű kiterjedésének tudható be (5. minta).

2. Táblázat. Különbözőképp szubsztituált benzaldehidek CTH reakciói Fe(Pc)- katalizátorral.

Ssz.	Kiindulási anyag	Termék	Konv.[%]
1.	benzaldehyd	benzil-alk.	> 99
2.	2-MeO- benzald.	2-MeO- benzil-alk.	> 99
3.	4-NO ₂ - benzald.	4-NO ₂ - benzil-alk.	91
4.	3-NO ₂ - benzald.	3-NO ₂ - benzil-alk.	57
5.	2-NO ₂ - benzald.	2-NO ₂ - benzil-alk.	25
6.	4- Cl- benzald.	4- Cl – benzil-alk.	> 99
7.	2,4-diMeO-benzald.	2,4-diMeO-benzil-alk.	98
8.	4-OH- benzald.	4-OH- benzil-alk.	0

Reakciókörülmények: 4 h, 80 °C, 2 ml propán-2-ol, 0,0038 mmol Fe(Pc), 0,38 mmol aldehyd, 0,095 mmol NaOH.

Homogén közegű vizsgálataink után a heterogén katalizátorok alkalmazása következett, amelyhez az Al₂O₃ hordozó felületére rögzített katalizátort használtuk. A reakciókban a homogén közegű optimalizáláshoz képest megnöveltük a reakcióidő hosszát és az alkalmazott bázis mennyiségét.

3. Táblázat. Különbözőképp szubsztituált benzaldehidek CTH reakciói Fe(Pc)/Al₂O₃ katalizátorral.

Ssz.	Kiindulási anyag	Termék	Konv.[%]
1.	benzaldehyd	benzil-alk.	> 99
2.	2-MeO- benzaldehid	2-MeO- benzil-alk.	> 99
3.	4-NO ₂ - benzaldehid	4-NO ₂ - benzil-alk.	85,5
4.	4- Cl-benzaldehid	4- Cl –benzil-alk.	70
5.	2,4-diMeO-benzald.	2,4-diMeO-benzil-alk.	97

Reakciókörülmények: 6 h, 80 °C, 2 ml propán-2-ol, 0,04 g (0,0019 mmol) Fe(Pc)/Al₂O₃, 0,19 mmol NaOH, 0,38 mmol aldehyd.

A 3. táblázat jól mutatja, hogy a vizsgált aldehidek esetében a heterogenizált katalizátorunk is megfelelő aktivitást mutatott, olyannyira, hogy a konverzió elérte a homogén közegben kapott eredményeket. Vagyis heterogén rendszerben is jó és kitűnő konverziókat értünk el a különböző benzaldehid származékok katalitikus transzferhidrogénezésében.

A heterogenizált katalizátor alkalmazása előtt meggyőződöttünk afelől, hogy az Al₂O₃ hordozó önmagában katalitikusan inaktív.

3.3.2. Ketonok katalitikus transzferhidrogénezésének vizsgálata

A karbonil csoport redukciójának kiterjesztése érdekében megvizsgáltuk a különbözőképp szubsztituált ketonok redukcióját is (4. táblázat).

A 4. táblázat azt mutatja, hogy nemcsak az aldehidek, de a ketonok CTH reakcióját is megfelelő aktivitással hajtottuk végre. A különbözőképpen szubsztituált származékok

4. Táblázat. Különböző ketonok CTH reakciói Fe(Pc)-katalizátorral.

Sz.	Kiindulási anyag	Termék	Konv.[%]
1.	acetofenon	1-feniletanol	96
2.	4-Me-acetofenon	4-Me-1-feniletanol	86
3.	4-MeO-acetofenon	4-MeO-1-feniletanol	63
4.	3,5-diMeO-acetofenon	3,5-diMeO-1-feniletanol	42

Reakciókörülmények: 12 h, 80 °C, 2 ml propán-2-ol, 0,0038 mmol Fe(Pc), 0,38 mmol keton, 0,38 mmol NaOH.

összehasonlítása során azt láthatjuk, hogy az elektronküldő csoportokkal szubsztituált ketonok reaktivitása kisebb, mint az acetofenoné, ami ellentétes az aldehideknél tapasztalt trenddel. Ezt a tényt az aldehidek és ketonok különböző reaktivitásával magyarázhatjuk, ill. az ebből eredő mechanizmusbeli különbözőséggel.

5. Táblázat. A különböző ketonok CTH reakciói Fe(Pc)/Al₂O₃ katalizátorral.

Sz.	Kiindulási anyag	Termék	Konv.[%]
1.	acetofenon	1-feniletanol	90
2.	4-Me-acetofenon	4-Me-1-feniletanol	71
3.	4-MeO-acetofenon	4-MeO-1-feniletanol	30
4.	3,5-diMeO-acetofenon	3,5-diMeO-1-feniletanol	22

Reakciókörülmények: 12 h, 80 °C, 2 ml propán-2-ol, 0,04g Fe(Pc)/Al₂O₃, 0,38 mmol NaOH, 0,38 mmol keton.

Az 5. táblázat a heterogenizált katalizátorunk felhasználását mutatja különböző ketonok esetében, ahol a homogén közegben végrehajtott reakciókhoz képest a körülményeken nem változtattunk. A táblázat adataiból jól látszik, hogy a ketonok CTH reakciói heterogenizált Fe(Pc)-katalizátorral némileg kisebb konverziót adtak, mint a homogén közegű vizsgálatok, de tendenciájában hasonló viselkedést mutattak. Azaz a heterogenizált katalizátorunk ebben az esetben is aktívnak bizonyult. Habár a különböző acetofenon származékok transzferhidrogénezésével kapott konverziók közepesnek mondhatók, kivéve az acetofenon esetét, de a trend megegyezett a homogén fázisban kapottakkal.

A katalitikus transzferhidrogénezési reakciók végrehajtása során az aldehidek és a ketonok esetében egyaránt nem észleltünk számottevő melléktermék keletkezését, csakhogy, mint a hasonló CTH reakciókat vizsgáló²⁷ irodalmi hivatkozásban M. Beller és munkatársai.

3.3.3. A heterogenizált Fe(Pc)/Al₂O₃ katalizátorok újra felhasználhatóságának vizsgálata

Amint arról már korábban szó volt, a heterogenizálás egyik előnye a katalizátor újrahasznosíthatósága, ezért CTH reakciók során is megvizsgáltuk a heterogenizált komplex újra felhasználhatóságát (6. ábra). Három egymást követő reakcióban vizsgáltuk a benzaldehid és az acetofenon redukcióját és azt tapasztaltuk, hogy a katalizátor megőrizte eredeti aktivitását az aldehid esetében, ugyanakkor az acetofenon redukciójakor némileg csökkenő aktivitást

mutatott. Ez a tény nagy valószínűséggel az aldehidek és ketonok reaktivásbeli különbözőségével van összefüggésbe.

Fe(Pc)/Al₂O₃ újrafelhasználása a benzaldehid és az acetofenon CTH reakcióiban**6. Ábra.** A heterogén katalizátor újrafelhasználási vizsgálata a benzaldehid és az acetofenon CTH reakcióiban.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetüket fejezik ki a pénzügyi támogatásért a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047 „Új, funkcionális anyagok által kiváltott biológiai és környezeti válaszok” című projekt és az OTKA NN- 103191 szerződésnek.

Hivatkozások

1. Linstead, R.P. J. Am. Chem. Soc. **1934**, 1016.
2. Leznoff, C.C.; Lever, A.B.P. Phthalocyanines-Properties and Applications, VCH, Weinheim: New York, I-IV, **1993**.
3. Moser, F.H.; Thomas, A.L. Phthalocyanine Compounds., Reinhold Publ. Co., New York, Chapman and Hall: London, **1963**.
4. Antus, S.; Matyus, P., Szerves kémia III. **2005**
5. Sorokin, A.; De Suzzoni-Dezard, S.; Poullain, D.; Noel, J.-P.; Meunier, B. J. Am. Chem. Soc. **1996**, 118, 7410-7411.
6. Sehloho, N.; Nyokong, T. J. Mol. Catal. A: Chem. **2004**, 209, 51-57.
7. Valente, A.A.; Vital, J. J. Mol. Catal. A: Chem. **2000**, 156, 163-172.
8. Kluson, P.; Drobek, M.; Krejčíková, S.; Krysa, J.; Cajthaml, T.; Rakusan, J. Appl. Catal. B **2008**, 80, 321-326.
9. Kluson, P.; Drobek, M.; Strask, T.; Krysa, J.; Karaskova, M.; Rakusan, J. J. Mol. Catal. A **2007**, 272, 213-219.
10. Kluson, P.; Drobek, M.; Kalaji, A.; Zarubova, S.; Krysa, J.; Rakusan, J. J. Photochem. Photobiol. A **2008**, 199, 267-273.
11. Braun, F.M.; Maurette, M.-T.; Oliveras, E. Photochemical Technology, Wiley: Chichester, **1991**.
12. Zhang, X.-F.; Xu, H.J. J. Photochem. Photobiol. B **1994**, 22, 235-239.
13. Fotte, C.S. Photochem. Photobiol. **1991**, 54, 659.
14. Herron, N.; Stucky, G.D.; Tolman, C.A. Inorg. Chim. Acta. **1985**, 100, 135.
15. De Vos, D.E.; Thibault-Starzyk, F.; Knops-Gerrits, P.P.; Jacobs, P.A. Macromol. Symp. **1994**, 80, 157-184.
16. Nagel, U.; Kinzel E. J. Chem. Soc. Chem. Commun. **1986**, 1098.
17. Balkus, K.J., Jr.; Gabrielov, A.E. J. Inclusion. Phenom. Mol. Recognit. Chem. **1995**, 21, 159.
18. Augustine, R.L.; Tanielyan, S.K.; Anderson S.; Yang, H. Chem. Commun. **1999**, 1257-1258.
19. Gladiali S.; Alberico, E. Chem. Soc. Rev. **2006**, 35, 226-236.

20. Noyori, R.; Yamakawa, M.; Hashiguchi, S. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 7931-7944.
21. Fache, F.; Schilz, E.; Tommasino, M. L.; Lemaire, M. *Chem. Rev.* **2000**, 100, 2159-2232.
22. Meyer, N.; Lough, A. J.; Morris, R. H. *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 5605-5610.
23. Mikhailine, A. A.; Morris, R. H. *Inorg. Chem.* **2010**, 49, 11039-11044.
24. Mikhailine, A. A.; Maishan, M. I.; Lough, A. J.; Morris, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 12266-12280.
25. Prokopchuk, D. E.; Sonnenberg, J. F.; Meyer, N.; Zimmer-De Iuliis, M.; Lough, A. J.; Morris, R. H. *Organometallics* **2012**, 31, 3056-3064.
26. Enthaler, S.; Erre, G.; Tse, M. K.; Junge, K.; Beller, M. *Tetrahedron Letters* **2006**, 47, 8095-8099.
27. Enthaler, S.; Spilker, B.; Erre, G.; Junge, K.; Tse, M. K.; Beller, M. *Tetrahedron* **2008**, 64, 3867-3876.

Preparation and application of immobilized Iron(II) phthalocyanine in oxidation and reduction reactions

Macrocyclic compounds known as phthalocyanines (Pc's) were first described in 1930's. Since then, many interesting applications have appeared due to their unique physical and chemical properties. Recently photocatalytic activity of some phthalocyanines was discovered and phthalocyanines, which are not active in photocatalysis, can also be used as oxidation catalysts in dark, together with common oxidation agents: hydrogen peroxide, peroxyacetic acid and tert-butylhydroperoxide (t-BuOOH).

Metal(phthalocyanine) complexes were prepared and applied in the oxidative degradation of 4-chlorophenol using H_2O_2 and tert-BuOOH, as oxidants. Among the prepared complexes Fe(Pc) seemed to be the most active one, consequently this complex was heterogenized in two different ways: to anchor into the Al_2O_3 surface and to built inside the NaY zeolite, by intrazeolite synthesis. The immobilized catalysts were applied in the oxidative degradation of 4-chlorophenol and they were found to be active in the above reaction. However, the two heterogenized catalysts had different behaviour; having determined the amount of complex on the immobilized samples, we can calculate the specific rate at 15 min and compare to each other. With this comparison we could see, that the anchored catalyst has a little higher activity than the homogeneous complex, meanwhile the TOF of the encapsulated one somewhat lower. The first observation is in good correlation with our former results. This is one of the advantages of the immobilized catalyst. However, the results of encapsulated complex are in contradiction with the above observation. Studying the performance of im-mobilized catalysts, not only the activity is important but the stability, as well, since the most important advantages of immobilization are the easy handling and recyclability of the immobilized complexes. Consequently we have studied the reusability of our heterogenized samples. The catalysts were simply filtered from the reaction mixture and applied in additional runs without further purification or activation. Both the immobilized samples were applied in three subsequent runs and we could observe the following: while the „ship-in-a-bottle“ type catalyst showed the expectable behaviour, the catalyst, made by the grafting method, was different. The activity of the Fe(Pc)/Z catalyst decreased after the first run, but it was constant in an additional run. This means that the zeolite encapsulated catalyst preserved its activity, while the other immobilized sample – the one, which had the higher TOF- lost activity in every subsequent run.

Comparing the two heterogenized catalysts and considering their stability, the encapsulated catalyst had a better performance having more or less the same activity. In spite of the fact that the encapsulated complex had a little bit lower TOF but its activity was constant in subsequent runs. Meanwhile the activity of the anchored complex decreases in every subsequent run. From the practical point of view, the stability is even more important than the higher TOF, which means, the encapsulated catalyst seems to be the better catalyst.

Reduction of carbonyl functionality of aldehydes and ketones by metal-catalysed transfer hydrogenation (CTH) using a suitable hydrogen donor is a valuable synthetic tool and was proven to be an elegant alternative of hydrogenation with molecular hydrogen. Since this latter one is often associated with risks, requires usually high pressure apparatus, the alternative method has been applied in several laboratories. Organic molecules such as hydrocarbons, primary and secondary alcohols, and formic acid and its salts have been used as hydrogen source in CTH reactions. Transition metals such as Rh, Ir, Ni, Pd and for carbonyl reduction Ru-complexes and propanol in the presence of base can catalyse the reduction.

An interesting challenge was to apply the Fe(Pc) catalyst in the catalytic transfer hydrogenation of aldehydes and ketones in order to replace the expensive metals like Rh, Ru with an easily available, cheap metal. Iron(II)phthalocyanine was applied in the catalytic transfer hydrogenation of different aldehydes and ketones, in the presence of base and 2-propanol. The reaction conditions were optimized in homogeneous conditions using benzaldehyde and acetophenone. In the optimum conditions several differently substituted aldehydes and ketones were hydrogenated with excellent and good conversions. Among the heterogenized Fe(Pc) catalysts, the anchored version was used in the hydrogenation reactions of aldehydes and ketones, as well. It was found that the activity of anchored Fe(Pc) catalyst was about the same, as the homogeneous complex in the case of both starting materials. In the recycling experiments the conversion of benzaldehyde did not decreased, meanwhile the conversion of acetophenone decreased a little bit. This fact was explained by the different reactivities of the two starting materials.

The results of these experiments show clearly, that the Fe(Pc) is a good, easily available, cheap catalyst both in oxidation and CTH as well.

4-Amino-5,6,7-trifluor-ftálimidek előállítása, in vitro és in vivo biológiai vizsgálata

MADÁCSI Ramóna,^{a,b} GYURIS Márió,^{c,d} KANIZSAI Iván,^a SIPOS Péter,^e WÖLFLING János^b és
PUSKÁS László G.^{a,c,*}

^aAVIDIN Kft., Alsókikötő sor 11., 6726, Szeged, Magyarország

^bSzegedi Tudományegyetem, Szerves Kémiai Tanszék, Dóm tér 8., 6720, Szeged, Magyarország

^cAVICOR Kft., Alsókikötő sor 11., 6726, Szeged, Magyarország

^dSzegedi Tudományegyetem, Orvos Vegytani Intézet, Dóm tér 8., 6720, Szeged, Magyarország

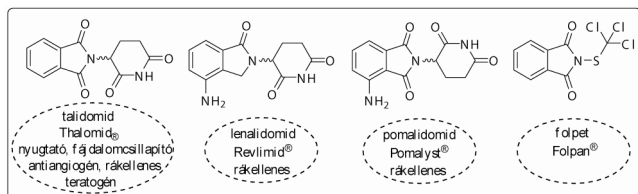
^eSzegedi Tudományegyetem, Gyógyszer technológiai Intézet, Eötvös utca 6., 6720, Szeged, Magyarország

1. Bevezetés

Az *N*-szubsztituált 1,3-izoidolon származékok (ftálimidek) széles farmakológiai hatásspektrummal rendelkező vegyületek, emellett az *N*-tioklóralkil származék gombaölő növényvédőszer (Folpan®) (1. ábra).¹⁻⁴

A család legismertebb farmakológiai képviselője, a Grünenthal gyógyszergyárban előállított (1957) talidomid, amely recept nélkül kapható nyugtató/fájdalomcsillapító gyógyszerként (Contergan®) került forgalomba. Évekkel később teratogén hatása (súlyos fejlődési és idegrendszeri károsodás, végtaghiány, végtagfejlődési rendellenességek) miatt kivonták a forgalomból.⁵⁻¹¹ Későbbi vizsgálatok kimutatták az egyik enantiomer (*S*-talidomid) felelősségét a rendellenesség kialakulásáért, azonban az emberi szervezetben lejátszódó racemizáció miatt az eredeti indikációban nem jelenthetett megoldást az eutomer (*R*-talidomid) előállítása és alkalmazása.¹²⁻¹³

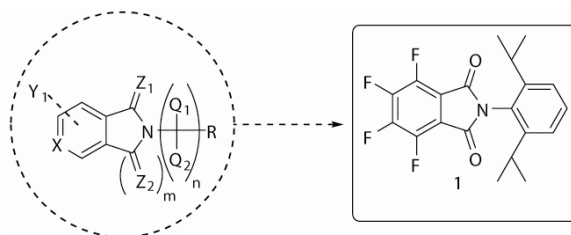
A közelmúltban azonban a racém talidomid felhasználásában új dimenzió nyílt; számos kórképben – Crohn-betegség, AIDS, valamint Kaposi-szarkóma és örökletes, vérzékenységgel járó kisértágulat (hereditary hemorrhagic telangiectasia, HHT) – vizsgálták és igazolták biológiai hatását.¹⁴⁻¹⁷ Nem mellékesen, a feltételezett angiogenezis gátló hatás miatt a talidomidot és az időközben törzskönyvezett származékait, a lenalidomidot (Revlimid®) és pomalidomidot (Pomalyst®) sikeresen alkalmazták tumoros megbetegedések (pl.: myeloma multiplex, leukémia, prosztatarák) kezelésére is (1. ábra).¹⁸⁻²⁷



1. Ábra. Kereskedelmi forgalomban kapható izoidolonok.

Az aromás gyűrűben a 4, 5, 6 és a 7-es helyzetben halogénnal tetrasubsztituált variánsok jelentős tumor-nekrózis faktor (α -TNF) gátló hatást mutattak. A vizsgált vegyületeket nukleofil acil szubsztitúciós reakcióval (S_N -acil), a

polifluorozott vagy poliklórozott ftálsavanhidrid és a megfelelő anilin reakciójával állították elő. A 2,6-diizopropil-anilin felhasználásával jutottak az adott assay-ben legaktívabb 2-(2,6-diizopropilfenil)-4,5,6,7-tetrafluorizoidolin-1,3-dionhoz (1) (2. ábra).²⁸⁻³⁰



2. Ábra. Szabadalmi védetség alatt lévő ftálimid származékok általános képlete, kiemelt példa (1).

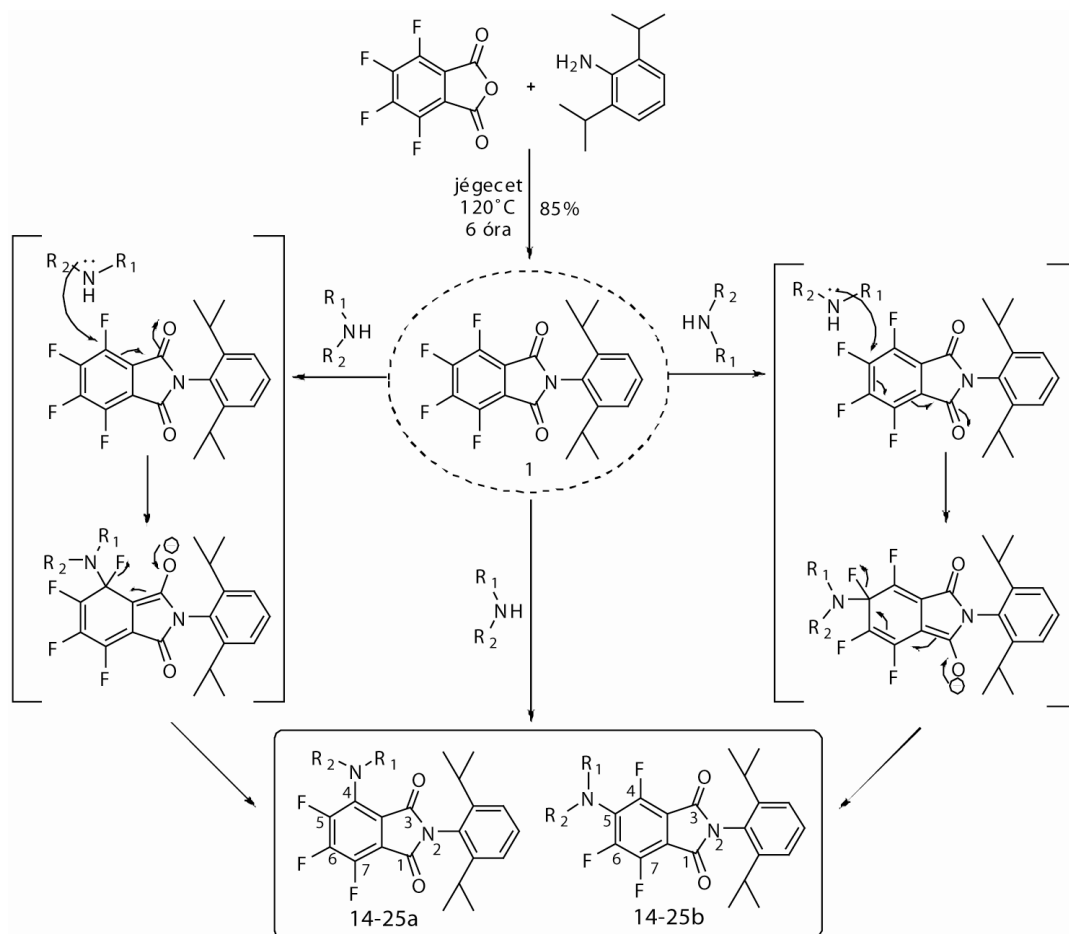
Az 1 tetrafluorozott ftálimid primer vagy szekunder aminokkal történő továbbalakításával, egy gyorsan felépíthető citotoxikus aktivitással rendelkező vegyületeknyvtárát kívántunk létrehozni, és a biológiai eredmények függvényében olyan molekulát kiválasztani, amely a lenalidomid és az 1 kiindulási vegyület farmakológiai hatását ötvözi.

2. Eredmények és értékelésük

Az aril-halogenidek aromás nukleofil szubsztitúciós reakcióban (S_N Ar) általában nem reaktívak, erre csak meghatározott szerkezeti feltételek adnak lehetőséget. Az *orto* vagy *para* helyzetben elektronszívó csoporttal szubsztituált aromás rendszerben egy elektronhiányos átmeneti állapot alakulhat ki, amely nukleofil aminokkal támadható. A folyamat lejátszódhat S_N1 , arin vagy S_N2 mechanizmussal Meisenheimer-komplexen keresztül (3. ábra).³¹⁻³³

Kiindulási vegyületünket a 2-(2,6-diizopropilfenil)-4,5,6,7-tetrafluorizoidolin-1,3-diont (1) a 3,4,5,6-tetrafluorftálsavanhidrid és 2,6-diizopropil-anilin S_N -acil reakciójával állítottuk elő (reakciókörülmények: jégecet, 120°C; 6 óra, termelés: 85%).

* Tel.: 06-30/676-5384 ; fax: 06-62/202-108; e-mail: laszlo@avidinbiotech.com

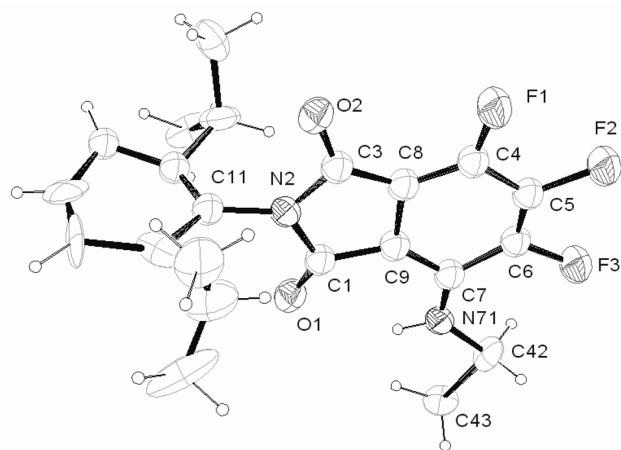


3. Ábra. 4- és 5-amino szubsztituált trifluor-ftálimidek előállítás; S_N2 mechanizmussal Meisenheimer komplexen keresztül.

Az **1** vegyület primer vagy szekunder aminokkal (**2-13**) aromás nukleofil szubsztitúciós reakcióban (S_NAr) a 4- és 5-amino-5,6,7- és 4,6,7-trifluorftálimid regioizomerekhez (**14a,b-25a,b**) vezet (1. táblázat). Az addíciós-eliminációs mechanizmus lejárásának feltételei adóttak: nukleofil támadás (aminok); fluorid (F^-) mint jól távozó csoport; illetve a ftálimid funkció karbonil csoportja a távozó halogenidhez képest *orto* és/vagy *para* helyzetben.

Első kísérleteinket feleslegben (2 ekvivalens) használt etilaminnal (**2**), szobahőmérsékleten, aprotikus oldószerben (diklórmetán) végeztük, és a várt **14a** és **14b** regioizomerek képződését tapasztaltuk, 39:61 arányban, jó termeléssel (87 %). Az oszlopkromatográfiás tisztítást és átkristályosítást követően a **14a** és **14b** regioizomerek pontos szerkezetét röntgenkristallográfiával határoztuk meg (4. és 5. ábra).^{30,34}

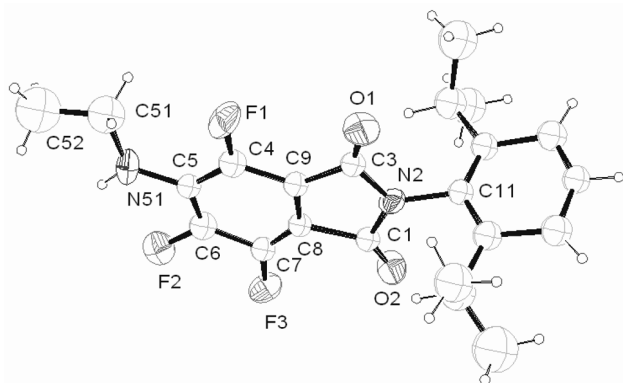
A további S_NAr reakciókat a **14a** és **14b** regioizomerek *in vitro* MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-karboximetoxifenil)-2-(4-szulfófenil)-2H-tetrazolium) tesztek eredményének függvényében terveztük meg.^{30,34} Kezdetben alifás aminokban gondolkodtunk, és etilamin vagy etanolamin egység beépítését céloztuk meg, végül 30 primer és 34 szekunder amin alkalmazva összesen 128 talidomid analógot állítottunk elő. A biológiailag aktívabb **a** regioizomer és a kevésbé aktív **b** származék szétválasztását és tisztítását Combiflash R_f 200 kromatográffal végeztük. A beállított módszerrel a későbbiekben a grammos tétel elválasztását is elvégeztük.



4. Ábra. A **14a** vegyület molekulaszerkezete röntgen kristallográfiás módszerrel.

A cikk terjedelmi korlátai miatt, csak az *in vitro* MTS eredményekben szignifikáns citotoxikus aktivitást mutató **14-25(a)** vegyületeket emeljük ki. A szintézisek során 2 ekvivalens primer és szekunder amin reagáltattunk az **1** kiindulási vegyülettel aprotikus oldószerben, szobahőmérsékleten 8 órán át kevertetve. A regioszelektív átalakulással döntően a biológiai értelemben kevésbé aktív **b** regioizomer képződését tapasztaltuk (1. táblázat). A szelektivitást érdemben befolyásolni képes körülményeket (hőmérséklet és/vagy ekvivalencia változtatása, additívek

használata) nem változtattuk, a célnak megfelelően a tiszta **a** regioizomerek izolálását tartottuk a szemünk előtt.



5. Ábra. A **14b** vegyület molekulaszervezete röntgen kristallográfiás módszerrel.

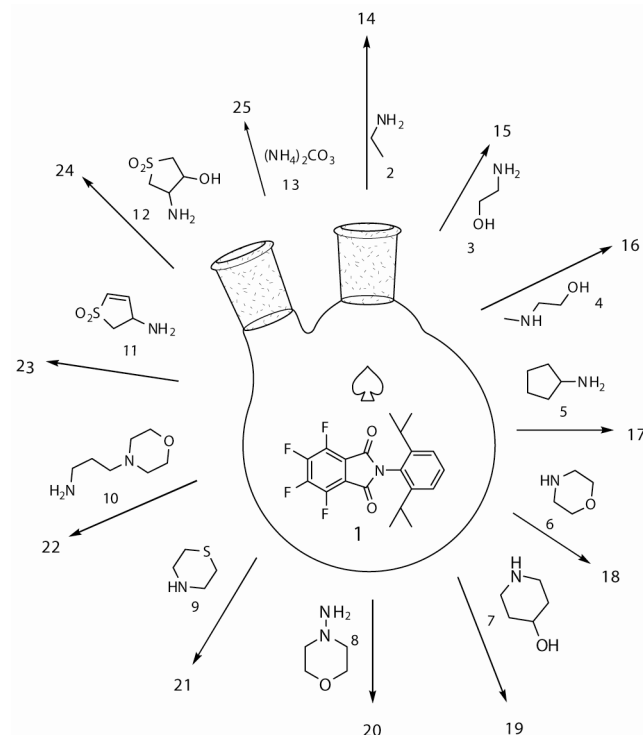
Két példától, a **20** és **22** vegyületektől eltekintve az **a** és **b** regioizomerek megközelítőleg 1:2 arányban képződnek (HPLC) míg a **15**, **17**, **21** és **25** vegyületeknél 1:4 és 1:9 közötti intervallumban változó értékeket tapasztaltunk. Meglepetésünkre, a **20** és **22** származékoknál megközelítőleg 1:1 arányt mértünk. Külön kiemelnénk a **11** és **12** heterociklusokat, amelyek rossz oldhatóságuk miatt aprotikus, poláris oldószert (pl.: DMF vagy DMSO) igényeltek. Az **1** kiindulási vegyület (média: H₂O:DMF 1:1) a 3-aminoszulfolén hidroklorid sóval (**11**) reagáltatva a **23a** és **23b** vegyületekhez jutottunk 69 %-os termeléssel; (regioizomerek aránya: **a**:**b**=28:72). Dimetil-szulfoxidban, *cis*- és *transz*-3-amino-4-hidroxiszulfolánból (**12**) kiindulva hasonló arányban (1:2) nyertük a (*cis* vagy *transz*) **24a** és **24b** izomereket megfelelő hozammal (79 %) (1. Táblázat).

Egy változatosabb, citotoxikus potenciállal rendelkező vegyületkönyvtár felépítéséhez a **25a** és **25b** ftálimideket állítottuk elő. A primer amino csoport acilezésével vagy karbamid addukt képzésével hatásosabb citotoxikus vegyületeket kívántunk előállítani. Ammóniás etanollal (20 m/V%) a 2-(2,6-diizopropilfenil)-4,5,6,7-tetrafluor-izoidolin-1,3-dion (**1**) a **26** savamidhoz vezetett kiváló termeléssel (90%). Gyengébb nukleofil karakterű aminforrást használva ((NH₄)₂CO₃) nyertük a kívánt 1-(2,6-diizopropilfenilamino)-2-oxoetil-3,4,5,6-tetrafluorbenzamid (**25a**) és 5-amino-2-(2,6-diizopropilfenil)-4,6,7-trifluorizoidolin-1,3-dion (**25b**) termékeket (60%; **a**:**b**=10:90). A **25a** ftálimidet a későbbiekben klóracetil-izocianáttal reagáltatva kaptuk „lead” vegyületünket, a **27** karbamid származékot jó hozammal (74%). Egyéb izocianátokkal megkísérelve a reakciót, nem tapasztaltunk konverziót (6. ábra).

Az előállított 129 analóg tumorelles hatását különböző sejtkultúrákon vizsgáltuk: HT168 (humán melanóma), HepG2 és Hep3B (humán hepatocelluláris karcinóma), MCF7 (humán emlő adenokarcinóma), PC3 (humán prosztata karcinóma), A549 (humán tüdőkarcinóma), HT29 (humán vastagbél karcinóma), K562 és HL60 (humán leukémia) és GBM1 (humán glióma). CellTiter® 96 Aqueous Non-radioactive Cell Proliferation Assay-t végeztünk, mely MTS-t és PMS-t tartalmazott. Az MTS-t az élő sejt formazánná alakítja, melynek abszorbanciája

a tápfolyadékban 490 nm-en detektálható ELISA lemez leolvasóval. Így indirekt módon az élő sejtek mennyiségére lehet következtetni.^{30,34}

1. Táblázat. 4- és 5-amino-2-(2,6-diizopropilfenil)-4,6,7-trifluor-izoidolin-1,3-dionok előállítása (**14-25**).



Reakció ^a	Amin	Termelés (%)	Izomerarány (%) ^b	
			a	b
14	etil-amin	86	39	61
15	etanol-amin	79	18	82
16	<i>N</i> -metil-etanol-amin	90	33	67
17	ciklopentil-amin	87	17	83
18	morfolin	73	30	70
19	4-piperidinol	71	34	66
20	<i>N</i> -aminomorfolin	59	44	56
21	tiomorfolin	77	8	92
22	<i>N</i> -aminopropil-morfolin	51	46	54
23	3-aminoszulfolén	69	28	72
24	3-amino-4-hidroxi-szulfolán	79	36	64
25	(NH ₄) ₂ CO ₃	60	10	90

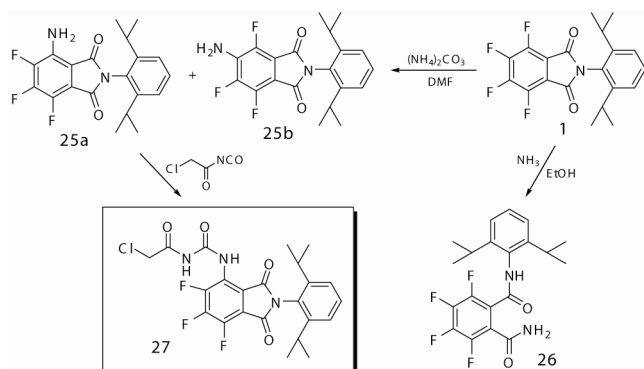
^a: a és b regioizomerek; ^b: HPLC alkalmazásával

Az *in vitro* mérések alapján négy vegyületet emelhetünk ki: a **23a**, a *cis*-**24a**, *transz*-**24a** és a **27** származékokat. Minden általunk vizsgált sejtvonalon a **27** bizonyult a leg-aktívabbnak. Melanoma és leukémia esetén mind a négy vegyület EC₅₀ értéke (tumor sejtek maximális növe-

2. Táblázat. EC₅₀ értékek meghatározása.

	Sejtvonal	EC ₅₀ (23a) (μM)	EC ₅₀ (<i>cisz</i> - 24a) (μM)	EC ₅₀ (<i>transz</i> - 24a) (μM)	EC ₅₀ (27) (μM)
emlő adenokarcinóma	MCF7	1,83	2,03	n.a.	1,08
hepatocelluláris karcinóma	HepG2	1,21	2,03	2,08	1,05
hepatocelluláris karcinóma	Hep3B	0,76	1,39	1,49	0,54
melanóma	HT168	0,25	0,52	0,52	0,23
tüdő karcinóma	A549	1,05	1,50	1,55	0,45
leukémia	K562	0,12	0,16	0,19	0,11
leukémia	HL60	0,15	0,21	0,22	0,12
vastagbél karcinóma	HT29	1,77	3,85	n.a.	1,58
prostatata karcinóma	PC3	1,45	2,04	n.a.	0,53
glióma	GBM1	1,06	1,09	1,11	0,45

kedésének 50 %-os gátlása) nanomólos koncentráció tartományban volt (2. táblázat).

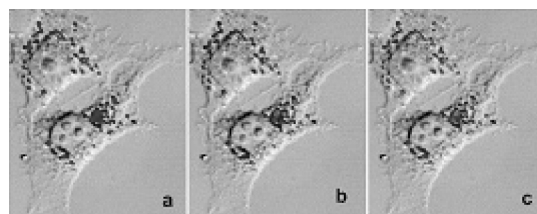


6. Ábra. Primer amino funkció kiépítése és továbbalakítása.

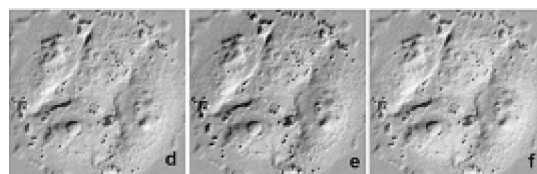
Konfokális fluoreszcens lézer szkennig mikroszkóppal, kiváló fluoreszcens tulajdonsága által a **14b** vegyületet választva, úgynevezett „dupla-festési” eljárással vizsgáltuk az anyagok intracelluláris elhelyezkedését. HT168 sejtvonalon a lipid cseppeket (LD) szelektíven színező oil red O festéket használtunk (1. kép). Azon lipid cseppek, melyekben a kéken fluoreszkáló **14b** jelen van, lila színt mutatnak. Endoplazmatikus retikulumra (ER) specifikus ER-Tracker™ Green alkalmazásával a két szín szinergizmusából türkiz szín jön létre (2. kép). A tumor sejtekben megfigyelhető a lipid cseppek felhalmozódása szemben a normál szövettel, így a lipid cseppekben jelen lévő **14b** mennyiségi meghatározása alkalmas lehet a tumor sejtek szelektív azonosítására is.²³⁻²⁴

A **23a** és **27** vegyületek rákellenes hatását élő állatban máj karcinóma modellen vizsgáltuk, melyben dietil-nitrózamin (DEN) bevitel hatására a *Matn2*^{-/-} transzgenikus egerek májában tumorképződést indukáltunk.^{30,34} A nanométerű hatóanyag-hordozó rendszer biokompatibilis és biodegradálható anyagokból formulált SUV típusú

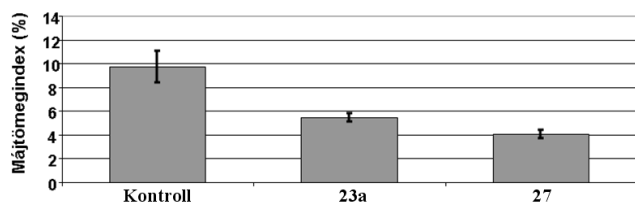
liposzóma volt, mivel a nem formulált hatóanyag az előkísérletek során kedvezőtlen felszívódási és toxikológiai profilt mutatott. Tíz hónap várakozás után az átlagos tumorszám 32,6%, míg a tumor incidencia 100% volt. Mértük a májtömeg testtömeghez viszonyított százalékos arányát, amely 5,43 értékről a DEN tumorindukció hatására 9,70 értékre emelkedett. Vegyületeink tumorelles hatását vizsgálva, a DEN injekciót követő 4. hónaptól 3 hónapon át, hetente kétszer 0,75 mg **23a**, illetve 2 hónapon át hetente kétszer 0,50 mg **27** kezelést alkalmaztunk. Tíz hónappal az tumorindukció után az egerek májtömegének testtömeghez viszonyított százalékos aránya a **23a** vegyülettel kezelt egerekben 5,5%, a **27** vegyülettel kezelt egerekben ugyanez a mérőszám 4% volt (7. ábra).



1. kép. Konfokális fluoreszcens lézer szkennig mikroszkópos felvétel oil red O festéssel. HT168 humán melanóma sejtekben a kékel fluoreszkáló **14b** (a. 5μM), illetve a lipid cseppekre specifikus (oil red O) (b) festési eljárás látható. A lila szín az oil red O vörös, a **14b** kék színének szinergizmusából keletkezik (c).²³⁻²⁴

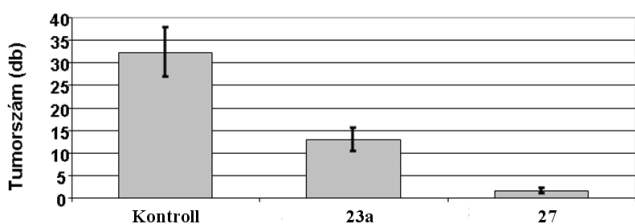


2. kép. Konfokális fluoreszcens lézer szkennig mikroszkópos felvétel ER-Tracker™ Green festéssel. HT168 humán melanóma sejtekben a kékel fluoreszkáló **14b** (d, 20μM), illetve az endoplazmatikus retikulumra specifikus (ER-Tracker™ Green) (e) festési eljárás látható. A türkiz szín az ER-Tracker™ Green és a **14b** színének szinergizmusából keletkezik (f). A d-f képek magasabb lézer teljesítmény mellett SCID egerek májszövetéből készültek.²³⁻²⁴



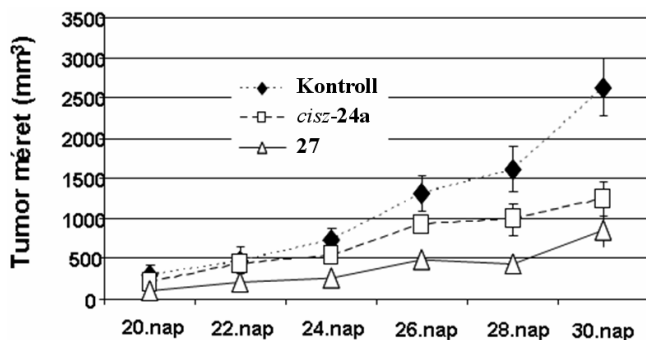
7. Ábra. 23a és 27 rákellenes hatása élő állatban; májkarcinóma.

Az átlagos tumorszám a csak DEN-t kapott egércsoportban a **23a** vegyület hatására lecsökkent 13 értékre, a **27** származék esetében 1,6-ra (8. ábra). Megállapíthatjuk, hogy DEN indukált máj karcinogenezis modellben **23a** és **27** kezeléssel mind a májtömegindexet, mind a tumorszámot sikeresen csökkentettük.



8. Ábra. 23a és 27 rákellenes hatása élő állatban; májkarcinóma.

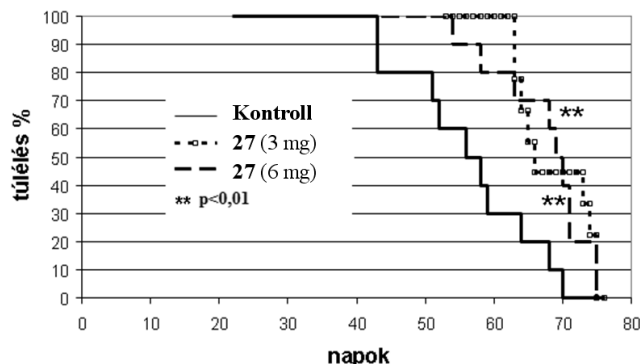
Az *cisz-24a* és **27** vegyületek tumorelles hatását MCF7 szubkután oltott SCID immunhiányos egérmódel len is elvégeztük.^{30,34} A kezeléseket a harmadik naptól kezdve, 4 héten keresztül heti háromszor (*cisz-24a* esetén 10 mg/kg, **27** esetén 3 mg/kg) adtuk. A 20. naptól minden másnap meghatároztuk a növekvő tumorok méretét. Látható, hogy mindkét vegyülettel történő kezelés csökkentette a növekvő emlőtumor méretét (9. ábra).



9. Ábra. *cisz-24a* és **27** rákellenes hatása élő állatban; emlőtumor.

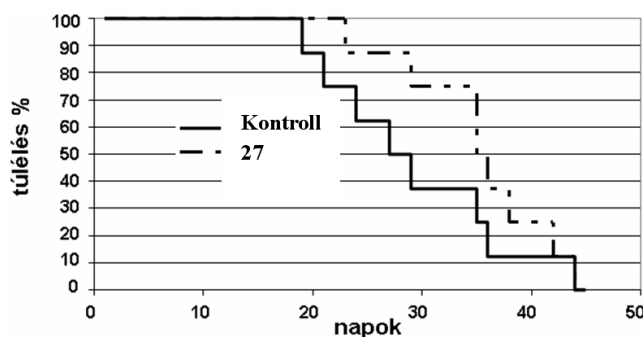
A **27** vegyületet melanóma ellen is vizsgáltuk, HT168 humán sejttel lépbe oltott SCID immunhiányos egérmódel len.^{30,34} A kezeléseket a harmadik naptól kezdve, 4 héten keresztül heti háromszor adtuk 3 mg/kg illetve 6 mg/kg dózisban intravénásan. Az idő előrehaladtával minden nap meghatároztuk a túlélő állatok számát (10. ábra). Mind a 3 mg/kg, mind a 6 mg/kg dózis hatásos volt, a **27** vegyülettel történő kezelés megnövelte az állatok túlélését.

A **27** glioblasztóma vizsgálatát U87 humán sejttel agyba oltott „nude” immunhiányos patkánymódel len végeztük el.^{30,34} A kezeléseket a hatodik naptól kezdve, 4 héten keresztül heti háromszor 3 mg/kg dózisban intravénásan adtuk. Az idő előrehaladtával minden nap meghatároztuk



10. Ábra. **27** rákellenes hatása élő állatban; melanóma.

a túlélő állatok számát (11. ábra). Itt is látható, hogy a vegyülettel történő kezelés hatásos volt, megnövelte az állatok túlélését.



11. Ábra. **27** rákellenes hatása élő állatban; glioblasztóma.

3. Összefoglalás

A 2-(2,6-diizopropilfenil)-4,5,6,7-tetrafluorizindolin-1,3-dion (**1**) aromás nukleofil szubsztitúciós reakcióban 129 új talidomid származékot állítottunk elő. A vegyület-könyvtárból az elsődleges biológiai teszteredmények (K562, humán leukémia sejtvonal) alapján a szignifikáns citotoxikus aktivitással rendelkező 13 molekula közül 4 „hit” vegyületet; a **23a**, a *cisz-24a* és a **27** származékokat további sejtvonalakon (humán tumor sejtvonalak: HT168, HepG2, Hep3B, MCF7, PC3, A549, HT29, K562, HL60, GBM1) is vizsgáltunk és nanomólos EC₅₀ értéket detektáltunk melanóma (HT168) valamint leukémia (K562, HL60) sejtvonalon.

A gramm-tételes előállítás optimalizálva, majd SUV liposzómába zárva a négy vegyületet *in vivo* teszteltük. Máj karcinóma módel lenben a **23a** és **27** vegyület, míg emlődagánat módel lenben a *cisz-24a* és **27** származék csökkentette szignifikánsan a tumorméretet. Emellett a **27** „lead” vegyület melanóma és glioblasztóma esetében megnövelte a kezelt állatok túlélési idejét.

Feltételezésünk szerint ezek a ftálimid származékok a cel-luláris vezikuláris rendszerek, különösen a lipid-cseppecskék kialakulását és működését befolyásolják. A biológiai hatás háttérében az endoplazmatikus retikulum oxidatív stressz folyamatának indukciója állhat, amely a tumorsejtek pusztulását eredményezi.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetet mondanak a kutatásokhoz nyújtott támogatásokért (GOP-1.1.1-11-2011-0003, GOP-1.1.1-11-2012-0015).

Hivatkozások

- Cabras, P.; Angioni, A.; Garau, V. L.; Melis, M.; Pirisi, F. M.; Farris, G. A.; Sotgiu, C.; Minelli, E. V. *J. Agr. Food Chem.* **1997**, *45*, 476-479.
- Salau, J. S.; Alonso, R.; Batlló, G.; Barceló, D. *Anal. Chim. Acta* **1994**, *293*, 109-117.
- Buettler, B.; Hoermann, W. D. *J. Agr. Food Chem.* **1981**, *29*, 257-260.
- Molnár, P.; Véghegyi, K.; Balogh, I. *J. Hort. Sci.* **2003**, *9*, 29-33.
- Simpson, J.; Weiner, E. *The Oxford English Dictionary*; Oxford University Press; 3rd edition, **2005**.
- Hashimoto, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 461-479.
- Matthews, S. J.; McCoy, C. *Clin. Ther.* **2003**, *25*, 342-395.
- Knightley, P.; Evans, H.; Potter, E.; Wallace, M. *Suffer The Children: The Story of Thalidomide*; New York: The Viking Press; **1979**.
- Miller, M. T. *T. Am. Ophthal. Soc.* **1991**, *81*, 623-674.
- Rouhi, M. *Chem. Eng. News* **2005**, *83*, 122.
- Franks, M. E.; Macpherson, G. R.; Figg, W. D. *Lancet* **2004**, *363*, 1802-1811.
- Pályi, G.; Zucchi, C.; Caglioti, L. *Advances in BioChirality*; Elsevier; 1st edition, **1999**.
- Silverman, R. B. *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*; Elsevier; 2nd edition, **2004**.
- Lebrin, F.; Srun, S.; Raymond, K.; Martin, S.; van den Brink, S.; Freitas, C.; Bréant, C.; Mathivet, T.; Larrivée, B.; Thomas, J. L.; Arthur, H. M.; Westermann, C. J. J.; Disch, F.; Mager, J. J.; Snijder, R. J.; Eichmann, A.; Mummery, C. L. *Nat. Med.* **2010**, *16*, 420-428.
- Ng, S. S.; Gütschow, M.; Weiss, M.; Hauschildt, S.; Teubert, U.; Hecker, T. K.; Luzzio, F. A.; Kruger, E. A.; Eger, K.; Figg, W. D. *Cancer Res.* **2003**, *63*, 3189-3194.
- Capitost, S. M.; Hansen, T. P.; Brown, M. L. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 327-336.
- Calabrese, L.; Fleischer, A. B. *Am. J. Med.* **2000**, *108*, 487-495.
- Singhal, S.; Mehta, J.; Desikan, R.; Ayers, D.; Roberson, P.; Eddlemon, P.; Munshi, N.; Anaissie, E.; Wilson, C.; Dhodapkar, M.; Zeldis, J.; Siegel, D.; Crowley, J.; Barlogie, B. *New Engl. J. Med.* **1999**, *341*, 1565-1571.
- Durine, B. G. M. *Semin. Oncol.* **2002**, *29*, 3-38.
- Rajkumar, S. V. *Expert Rev. Anticanc.* **2001**, *1*, 20-28.
- Little, R. F.; Wyvill, K. M.; Pluda, J. M.; Welles, L.; Marshall, V.; Figg, W. D.; Newcomb, F. M.; Tosato, G.; Feigal, E.; Steinberg, S. M.; Whitby, D.; Goedert, J. J.; Yarchoan, R. *J. Clin. Oncol.* **2000**, *18*, 2593-2602.
- Ge, Y.; Montano, I.; Rustici, G.; Freebern, W. J.; Haggerty, C. M.; Cui, W.; Ponciano-Jackson, D.; Chandramouli, G. V. R.; Gardner, E. R.; Figg, W. D.; Abu-Asab, M.; Tsokos, M.; Jackson, S. H.; Gardner, K. *Blood* **2006**, *108*, 4126-4135.
- Puskas, L. G.; Feher, L. Z.; Vizler, C.; Ayaydin, F.; Raso, E.; Molnar, E.; Magyary, I.; Kanizsai, I.; Gyuris, M.; Madacsi, R.; Fabian, G.; Farkas, K.; Hegyi, P.; Baska, F.; Ozsvári, B.; Kitajka, K. *Lipids Health Dis.* **2010**, *9*, 56.
- Nagy, L. I.; Molnár, E.; Kanizsai, I.; Madácsi, R.; Ozsvári, B.; Fehér, L. Z.; Fábán, G.; Marton, A.; Vizler, C.; Ayaydin, F.; Kitajka, K.; Hackler, L. Jr.; Mátés, L.; Deák, F.; Kiss, I.; Puskás, L. G. *Lipids Health Dis.* **2013**, *12*, 175.
- Mitsiades, N.; Mitsiades, C. S.; Poulaki, V.; Chauhan, D.; Richardson, P. G.; Hideshima, T.; Munshi, N. C.; Treon, S. P.; Anderson, K. C. *Blood* **2002**, *99*, 4525-4530.
- Singhal, S.; Mehta, J. *Biomed. Pharmacother.* **2002**, *56*, 4-12.
- Noopur, R.; Kenneth, A. *Curr. Opin. Oncol.* **2002**, *14*, 635-640.
- Kaisha, I. S.; Yuichi, H. Phthalimide derivative or its salt, their production and pharmaceutical composition containing the derivative JPH Patent 10,231,285, **1998**.
- Avicor Kft. Compounds and composition for labeling lipid droplets, and a method for visualization of cells and/or cellular organelles WO Patent 155,593, **2008**.
- Avidin Kft. Phthalimide derivatives that influence cellular vesicular systems, pharmaceutical compositions, and use thereof US Patent 184,762, **2010**.
- Muir, M.; Baker, J. *J. Fluorine Chem.* **2005**, *126*, 727-738.
- Chambers, R. D.; Martin, P. A.; Sandford, G.; Williams, D. L. *J. Fluorine Chem.* **2008**, *129*, 998-1002.
- Liljenberg, M.; Brinck, T.; Herschend, B.; Rein, T.; Rockwell, G.; Svensson, M. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 3150-3153.
- Avidin Kft. Use of trifluoro phthalimides for the treatment of cancerous diseases WO Patent 85,608, **2012**.

Preparation and biological screening of 4-amino-5,6,7-trifluorophthalimides in vitro and in vivo

N-substituted 1,3-isoindolones (phthalimides) possess broad pharmaceutical potency and an *N*-thiochloroalkyl derivative is a marketed antifungal crop protective preparation (Folpan®). The most well known member of this family is thalidomide (Contergan®) introduced by Grünenthal in 1957. While owing to the teratogenic side-effect of the *S*-enantiomer it was withdrawn from the market, recently racemic thalidomide was re-introduced in a number of indications like Crohn's disease, AIDS and hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT). Due to its supposed angiogenesis inhibitor effect, thalidomide and its recently registered derivatives (lenalidomide and pomalidomide) have been successfully applied in cancerous diseases like myeloma multiplex, leukaemia and prostate cancer (Scheme 1). Compounds having four halogen substituent in their aromatic ring showed remarkable TNF- α inhibitory effect and among them the tetrafluoro *N*-2,6-diisopropylphenyl (**1**) derivative proved to be the most potent (Scheme 2). Our aim was to further derivatize compound **1** and to attempt to merge the pharmacological efficacy of lenalidomide and **1**.

Our starting material **1** was synthesized by the S_N -acyl reaction of 3,4,5,6-tetrafluorophthalic anhydride and 2,6-diisopropyl aniline in good yield (85%). The treatment of **1** with primary or secondary amines leads to regioisomeric mixture of 4- and 5-amino 5,6,7- and 4,6,7-trifluorophthalimide derivatives in an aromatic nucleophilic substitution (S_N Ar) reaction. The circumstances are optimal for the addition-elimination pathway: nucleophilic attack of the amines, fluoride as an excellent leaving group and the carbonyl function of the phthalimide *ortho* and/or *para* to the leaving halogenide. The first obtained regioisomers **14a** and **14b** could be efficiently separated and thus their exact structures were confirmed by means of X-ray crystallography. Further derivatives were designed based on the initial MTS test. As a result, 129 thalidomide derivatives were prepared by the application of 30 primary and 34 secondary amines. Consistently, regioisomers **a** proved to be biologically more active over isomers **b**. Regarding the synthetic work, 2 equivalents of amine were reacted with starting material **1** that furnished in all case the biologically less active regioisomer **b** as the main product. However, efficient separation was possible in all case on gram

scale. The formation of the regioisomers was typically in the range of 1:9 to 1:2 apart from two examples **20** and **22** where a nearly 1:1 ratio was observed (Table 1). In order to gain access to a compound library with enhanced cytotoxicity, phthalimides **25a** and **25b** were synthesized containing a primary amino group on the aromatic ring. By further derivatizing this functionality, our aim was to prepare a more potent cytotoxic compound. As an example, reacting **25a** with chloroacetyl isocyanate furnished the urea derivative **27** in good yield. However, treatment with other isocyanates resulted in only unreacted starting material.

The obtained 129 analogues were screened in biological assay (K562, human leukaemia cell line) (See Table 2.). Four of our compounds (**23**, *cis* **24a**, *trans* **24a** and **27**) showed marked antitumor activity and further tested on numerous human tumour cell lines (MCF7, HepG2, Hep3B, HT168, A549, K562, HL60, HT29, PC3, GBM1).

Excellent activities were observed in melanoma (HT168) and leukaemia (K562 and HL60) assays, all four compounds gave EC₅₀ values in the nanomolar range. Due to the excellent fluorescent property of **14b**, the intracellular location of our materials could be examined by confocal fluorescent laser scanning microscopy

applying a “double-painting” procedure. As lipid droplet accumulation can be observed in cancer cells unlike in normal ones, quantitative measurement of **14b** could serve as a selective tool for cancer cell identification, as well. After optimization of the gramm scale preparation protocol and formulation into an SUV type liposome, our compounds were tested on living animals, as well. Compounds **23a** and **27** decreased the liver mass index (from 9.7 to 5.5 and 4 respectively) and the tumour number (from 32.6 to 13 and 1.6 respectively) in liver cancer while compounds *cis* **24a** and **27** the tumour size in breast cancer models. Additionally, in melanoma and glioblastoma models analogue **27** increased the survival rate of the test animals significantly by several days.

Our nanosized liposome system formulated from biocompatible and biodegradable materials as former experiments showed adverse absorption and toxicological profile of the non-formulated active agent.

We propose that these phthalimide derivatives influence the function of the cellular vesicular system, especially the formation of lipid droplets. The background of the biological effect might be the oxidative stress induction of the endoplasmatic reticulum that results in the destruction of cancer cells.

A monomolekulás reakcióhálózatok általános formálkinetikai modellezése

TÓBIÁS Roland József, GYÉVI-NAGY László és TASI Gyula*

Szegedi Tudományegyetem, Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszék, Rerrich Béla tér 1., 6720 Szeged, Magyarország

1. Bevezetés

Az izoméria jelensége fontos szerepet játszik mind az ipari, mind a gyógyszerkémiai kutatásokban. Érdemes megemlíteni, hogy a kiralitás igen komoly problémát okozott jónéhány vegyület gyógyászati alkalmazásában.¹

Ahhoz azonban, hogy az izomerek pontos eloszlását megállapítsuk, a korrekt matematikai és reakciókinetikai tárgyalásmód elengedhetetlen. Eddig kizárólag reverzibilis izomerizációs lépéseket, illetve irreverzibilis, bomlásokat is tartalmazó mechanizmusok tárgyalásával foglalkoztak.^{2,3} Munkánk során teljessé tettük a monomolekulás reakció kinetikai modelljét, mellyel minden monomolekulás mechanizmus konzisztens módon kezelhető.

Tegyük fel, hogy egy zárt homogén rendszerben K számú kémiai komponens között R számú elemi kémiai reakció játszódik le. A reakciórendszer kemizmusát leíró egyenletrendszer:⁴

$$D\alpha = G\alpha, \quad (1)$$

ahol $\alpha = \{A_j\}$ a kémiai szimbólumok vektora, $D = \{d_{ij}\}$ a fogyási, $G = \{g_{ij}\}$ pedig a termelődési mátrix (a d_{ij} az i -ik reakcióban elfogyó, a g_{ij} pedig a i -ik folyamatban képződő A_j komponens számát reprezentálja). Egy oldalra rendezve az összefüggést, kapjuk a reakciórendszer sztöchiometriai egyenletrendszerét:

$$S\alpha = (G - D)\alpha = 0, \quad (2)$$

ahol bevezettük az $S = \{v_{ij}\}$ sztöchiometriai mátrixot.

Az S mátrix blokk-diagonalizálható, ha léteznek olyan P és Q permutációs mátrixok, melyekre:

$$PSQ = \text{diag}(\sigma_i), \quad (3)$$

ahol a σ_i -k téglalapmátrixok ($\dim(\sigma_i) = \alpha_i \times \beta_i$), a dimenziókra pedig teljesül a $\sum \alpha_i = R$ és a $\sum \beta_i = K$ összefüggés. Ha ilyen P és Q nem létezik, akkor S nem blokk-diagonalizálható. Egy tetszőleges kémiai reakciórendszert *reakcióhálózatnak* nevezünk, ha a hozzátartozó sztöchiometriai mátrix nem hozható blokk-diagonális formára. Természetesen bármely reakciórendszer felírható egy vagy több reakcióhálózatként.

Az i -ik reakció molekularitása alatt a következő mennyiséget értjük:

$$\mu_i = \sum_{j=1}^K d_{ij}. \quad (4)$$

Az i -ik reakció monomolekulás, ha $\mu_i = 1$, illetve bimolekulás, ha $\mu_i = 2$ ($\mu_i > 2$ csak speciális esetekben, például légkörkémiai vagy autokatalitikus rendszerekben fordul elő). Ezek alapján célszerű *monomolekulás reakciórendszernek*

nevezni minden olyan reakciórendszert, melyben csak monomolekulás reakciók játszódnak le. *Monomolekulás (reakció)hálózatok* alatt pedig a monomolekulás reakciókból álló reakcióhálózatokat értjük.

2. A monomolekulás reakcióhálózatok differenciális és integrális anyagmérlege

A $D\alpha = G\alpha$ reakciórendszer komponenseihez tartozó c_j koncentrációk ($j = 1, 2, \dots, K$) változását az alábbi differenciál-egyenlet-rendszer (*differenciális anyagmérleg*) írja le⁵:

$$\dot{C}(t) = S^T p(t), \quad (5)$$

ahol $\dot{C}(t) = \{\dot{c}_j(t)\}$ a koncentrációk idő szerinti deriváltjainak vektora, S^T az $S = \{v_{ij}\}$ sztöchiometriai mátrix transzponáltja, $p(t) = \{r_i(t)\}$ pedig a reakciósebességek vektora ($\dim(S) = R \times K$, $\dim(\dot{C}(t)) = K \times 1$ és $\dim(p(t)) = R \times 1$).

Az $r_i(t)$ a Guldberg–Waage törvényből számítható, azaz:

$$r_i(t) = k_i \prod_{j=1}^K c_j(t)^{d_{ij}}, \quad (6)$$

ahol k_i a K sebességi együtthatóvektor i -ik eleme.

Ha bevezetjük a $\Lambda = \{\lambda_{ij}\}$ mátrixot, (5) felírható a

$$\dot{C}(t) = \Lambda C(t) \quad (7)$$

alakban is ($\dim(\Lambda) = K \times K$). Algebrai manipulációval Λ a következő alakot ölti:

$$\Lambda = \dot{C} C^T (C C^T)^{\dagger},$$

ahol $(C C^T)^{\dagger}$ a $C C^T$ pszeudoinvertet jelöli. Ha a koncentrációk lineárisan összefüggők, akkor a $C C^T$ mátrix szinguláris, vagyis Λ előállítása nem egyértelmű (egy \dot{C} -hez több Λ is megadható).

Egy zárt reakciórendszert akkor tekintünk kinetikailag relevánsnak, ha az alábbi tulajdonságok teljesülnek:

$$(\forall t > 0)(C_0 \neq 0 \Rightarrow C(t) \neq 0), \quad (8)$$

$$(\forall t \geq 0, j = 1, 2, \dots, K)(0 \leq c_j(t) < \infty), \quad (9)$$

$$(\exists C^*)(C^* = \lim_{t \rightarrow \infty} C(t)), \quad (10)$$

ahol $C(t=0) = C_0 = \{c_{0j}\}$ a bemérési koncentrációk vektora.

Legyen $D\alpha = G\alpha$ monomolekulás reakcióhálózat! Ebben az esetben a reakciósebességek következőképp számíthatók:

$$r_i(t) = k_i c_j(t), \text{ ha } v_{ij} = -1. \quad (11)$$

* Főszerző. Tel.: 62/544-625; e-mail: tasi@chem.u-szeged.hu

Összevetve (11)-et (5)-tel és (7)-tel, könnyen belátható, hogy a $\partial \mathbf{C} / \partial \mathbf{C} = \{ \partial c_i / \partial c_j \}$ mátrix Λ egy lehetséges reprezentációja. Kis számolással a Λ mátrixra a következő formula adódik⁵:

$$\Lambda = \mathbf{S}^T \text{diag}(k_i) \mathbf{D} \quad (12)$$

ahol $\text{diag}(k_i)$ a sebességi együtthatók diagonálmátrixa.

A (12)-ből látható, hogy Λ monomolekulás hálózatokra független a koncentrációtól, így (7) Laplace-transzformációval megoldható, sőt (10) alapján $\det \Lambda = 0$ is következik. A $\gamma_j(s)$ függvényeket, a $c_j(t)$ koncentrációk Laplace-transzformáltjait így definiáljuk:⁶

$$\gamma_j(s) = \int_0^\infty c_j(t) e^{-st} dt, \quad (13)$$

ahol s a transzformációs változó. Bevezetve a $\Gamma(s) = \{\gamma_j(s)\}$ vektort, a transzformációs szabályok alapján:

$$s\Gamma(s) - \mathbf{C}_0 = \Lambda \Gamma(s). \quad (14)$$

Elemi átalakításokkal kapjuk a (15)-ös formulát:

$$\Gamma(s) = \Lambda^{-1}(s) \mathbf{C}_0, \quad (15)$$

ahol $\Lambda^{-1}(s) = s\mathbf{I} - \Lambda$, \mathbf{I} pedig a K -adrendű egység mátrix. Figyelembe véve, hogy $\Lambda^{-1}(s) = \text{adj } \Lambda'(s) / \det \Lambda'(s)$, melyben $\Lambda'(s)$ a $\Lambda'(s)$ mátrix előjeles aldeteminánsaiból álló mátrixának transzponáltja, és hogy $\det \Lambda'(s) = (-1)^K p_\Lambda(s)$, ahol $p_\Lambda(s)$ a Λ karakterisztikus polinomja, Λ sajátértékeivel $\Lambda^{-1}(s)$ felírható parciális törtmátrixok összegeként:⁷

$$\Lambda^{-1}(s) = \sum_{i=1}^L \sum_{j=1}^{m_i} \chi_{ij} \frac{1}{(s - s_i)^j}, \quad (16)$$

ahol s_i a Λ mátrix i -ik sajátértéke, m_i annak multiplicitása, L az egymástól különböző sajátértékek száma, χ_{ij} pedig az i -ik sajátérték j -ik együtthatómátrixa ($p_\Lambda(s)$ együtthatóinak és gyökeinek meghatározásáról a következő fejezetben lesz szó). Visszahelyettesítve (16)-ot (15)-be és elvégezve az inverz transzformációt, kapjuk, hogy:

$$\mathbf{C}(t) = \sum_{i=1}^L \sum_{j=1}^{m_i} \left[\chi_{ij} \mathbf{C}_0 \frac{t^{j-1}}{(j-1)!} e^{s_i t} \right]. \quad (17)$$

$\mathbf{C}(t)$ meghatározásához szükségünk lenne a χ_{ij} mátrixokra, ehelyett viszont egy egyszerűbb módszert mutatunk be.⁸ Figyelembe véve a komplex számok algebrájának alaptételét, miszerint az egymástól különböző gyökök multiplicitásainak összege a hozzájuk tartozó polinom fokszámával, jelen esetben K -val egyenlő, bevezethetjük az $\mathbf{E}(t) = \{e_k(t)\}$ ún. időfejlődés-vektort ($\dim(\mathbf{E}(t)) = K \times 1$):

$$\mathbf{E}(t) = \{e^{s_1 t}, t e^{s_1 t}, t^2 e^{s_1 t}, \dots, t^{m_1-1} e^{s_1 t}, \dots, e^{s_L t}, t e^{s_L t}, t^2 e^{s_L t}, \dots, t^{m_L-1} e^{s_L t}\}^T \quad (18)$$

(18)-ből látszik az $e_k = e_k(t)$ elemek lineáris függetlensége, így a c_j -kre is érvényes Euler tétele ($j = 1, 2, \dots, K$):⁶

$$c_j = \sum_{k=1}^K \frac{\partial c_j}{\partial e_k} e_k. \quad (19)$$

Bevezetve az $u_{jk} = \partial c_j / \partial e_k$ és az $\mathbf{U} = \{u_{jk}\}$ jelöléseket, kapjuk, hogy:

$$\mathbf{C}(t) = \mathbf{U} \mathbf{E}(t). \quad (20)$$

Nyilvánvaló, hogy az \mathbf{U} mátrix független az időtől. (19)-ből az is látható, hogy \mathbf{U} , melynek elemei még ismeretlenek, a $\mathbf{C}(t)$ vektor \mathbf{E} szerinti Jacobi-mátrixa.

A (18)-(20) alatt bemutatott átalakításokkal elértük, hogy a K számú χ_{ij} mátrix helyett csupán \mathbf{U} -t kell előállítanunk. Ehhez (7) és (20) alapján vegyük fontolóra az alábbiakat:

$$\begin{aligned} \mathbf{C}(0) &= \mathbf{C}_0 = \mathbf{U} \mathbf{E}(0) \\ \dot{\mathbf{C}}(0) &= \Lambda \mathbf{C}_0 = \mathbf{U} \dot{\mathbf{E}}(0) \\ &\vdots \\ \mathbf{C}^{(K-1)}(0) &= \Lambda^{K-1} \mathbf{C}_0 = \mathbf{U} \mathbf{E}^{(K-1)}(0) \end{aligned} \quad (21)$$

Készítsünk egy Λ_0 mátrixot, melynek oszlopai a $\Lambda^k \mathbf{C}_0$ vektorok, majd Λ_0 -hoz hasonlóan egy \mathbf{V} -t az $\mathbf{E}^{(k)}(0)$ vektorokból ($k = 1, 2, \dots, K-1$), melyet Vandermonde-mátrixnak nevezünk. Ezzel (21) következőképpen írható fel:

$$\Lambda_0 = \mathbf{U} \mathbf{V}. \quad (22)$$

Az $\mathbf{E}^{(k)}(0)$ vektorok ($k = 1, 2, \dots, K-1$) a differenciálszámítás elemi szabályai szerint viszonylag egyszerűen előállíthatók, \mathbf{V} -ről pedig bebizonyítható, hogy minden esetben reguláris, így létezik az $\mathbf{U} = \Lambda_0 \mathbf{V}^{-1}$ mátrixszorzat. A \mathbf{V} mátrix inverzét numerikusan is meghatározhatjuk (például LU-faktorizációval⁹). Ezzel megkaptuk az ismeretlen \mathbf{U} mátrixot. A fenti megfontolások alapján a egyenlet megoldása:

$$\mathbf{C}(t) = \Lambda_0 \mathbf{V}^{-1} \mathbf{E}(t). \quad (23)$$

(23)-at a *monomolekulás hálózatok integrális anyagmérlegének* nevezzük.

Látható, hogy a megoldás viszonylag egyszerű: $\mathbf{C}(t)$ kiszámításához csupán Λ sajátértékeit, a Λ_0 és az invertált \mathbf{V} mátrixokat, valamint az $\mathbf{E}(t)$ vektort használjuk fel. A továbbiakban a Λ mátrix sajátértékeinek meghatározásával és azok tulajdonságaival foglalkozunk.

3. A Λ mátrix sajátérték-problémája

A $p_\Lambda(s)$ polinom gyökeinek előállításához szükségünk van az a_n együtthatókra. Ha a_n az n -ik s -hatvány koefficiense ($n = 0, 1, \dots, K$), akkor azok ekképp számíthatók:^{10,11}

$$\begin{aligned} a_K &= (-1)^K \\ a_{K-n} &= -\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n a_{K-n+i} \text{tr}(\Lambda^i) \quad (n = 1, 2, \dots, K-1) \end{aligned} \quad (24)$$

ahol $\text{tr}(\Lambda^i)$ a Λ mátrix i -ik hatványának spúrja (nyoma).

Szemügyre véve a (8)-(10) feltételeket, Λ sajátértékeire bizonyos megkötéseket kell tennünk. Ez azt jelenti, hogy Λ elemei nem lehetnek függetlenek egymástól, végső soron pedig azt, hogy egyes komponensek közötti folyamatokat a priori ki kell zárunk.

(8) teljesülése felől nincs kétség, a megoldás nemnegativitásának bizonyítása⁵ viszont eléggé terjedelmes. Nyilván a korlátosság akkor lehetséges, ha (23) időfüggő része korlátos, azaz minden k -ra $e_k^* = \lim_{t \rightarrow \infty} e_k(t) < \infty$. Bevezetve az $e_k(t) = t^i \exp(s_i t)$ jelölést, $e_k^* < \infty$ kizárólag (25) vagy (26) teljesülése esetén állhat fenn, különben

pedig $e_k^* \rightarrow \infty$:

$$\operatorname{Re}(s_j) = 0 \wedge i = 0 \quad (25)$$

$$\operatorname{Re}(s_i) < 0 \quad (26)$$

(25) azt jelenti, hogy $i \neq 0$ -hoz nem tartozhat $\operatorname{Re}(s_j) = 0$, vagyis ha $p_\Lambda(s)$ -nek van ilyen típusú gyöke, akkor az nem-degenerált. Ezenfelül ha $\operatorname{Re}(s_j) = 0$, akkor $\operatorname{Im}(s_j) = 0$ -nak is fenn kell állnia, hisz $\operatorname{Im}(s_j) \neq 0$ esetén – (8)-at sértve – csillapítatlan harmonikus oszcilláció lépne fel.

Mivel Λ szingularitása (10)-ből következően szükséges feltétel, (25) akkor lehetséges, ha Λ -nak egy egyszeres zérus gyöke van. Ezek alapján arra jutottunk, hogy a (8)-(10) feltételek kizárólag (27) és (28) esetén teljesülnek:

$$s_L = 0 \quad (27)$$

$$\operatorname{Re}(s_i) < 0 \quad (i = 1, 2, \dots, L - 1). \quad (28)$$

Könnyen belátható, hogy ha csak izomerizációs reakciólépéseket engedünk meg, akkor (27) és (28) mindig teljesül, ezt azonban bomlást is tartalmazó hálózatokról nem mondhatjuk el általánosan, ugyanis felléphetnek pozitív visszacsatolások. Nézzünk meg egy olyan ötletet, mellyel ezek a kellemetlen, kémiai irreleváns folyamatok kiszűrhetők.

Particionáljuk a komponensek halmazát ekvivalenciaosztályokra! A nulladik osztályba helyezzük azon A_i komponenseket, melyek nem izomerjei bomlástermékeknek és maguk sem azok, az n -ik szintre pedig az $(n-1)$ -ik osztály bomlástermékeit és ezek izomerjeit ($n = 2, 3, \dots, N$), ahol N az ekvivalenciaosztályok száma. Jelölje δ_i azt, hogy A_i mely osztályba tartozik. Kémiai szemléletünknek megfelelően egy tetszőleges $A_l \rightarrow \sum v_{im} A_m$ monomolekulás reakcióban az alábbi kikötéseket kell tennünk a v_{im} -ekre:

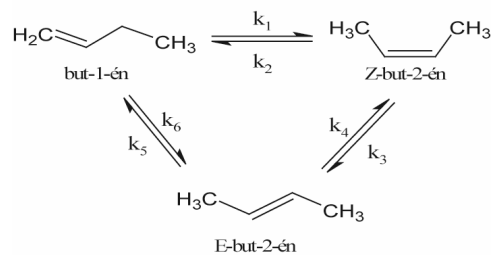
$$\begin{aligned} \delta_l < \delta_m &\Rightarrow v_{im} \geq 0 \\ \delta_l = \delta_m &\Rightarrow 0 \leq v_{im} \leq 1 \\ \delta_l > \delta_m &\Rightarrow v_{im} = 0. \end{aligned} \quad (29)$$

Bizonyítható, hogy ha (29) teljesül, akkor (27) és (28) érvényes lesz.

Ezzel beláttuk, hogy minden kémiai érthető monomolekulás hálózat Λ mátrixa egy zérus sajátértékkel rendelkezik, így már csak a visszamaradó $(K - 1)$ számú gyököt kell lokalizálni. Abban az esetben, ha $K - 1 \leq 4$, vagyis $K \leq 5$, ezek algebrai úton is meghatározhatók az első-, a másod-, a harmad- és a negyedfokú egyenletekre vonatkozó megoldó képletekkel.¹² $K > 5$ -nél már numerikus módszert kell alkalmaznunk, melyek közül a legpontosabb a gyors implicit QR-algoritmus.¹³

4. Egy monomolekulás hálózat: a butén-izomerizáció

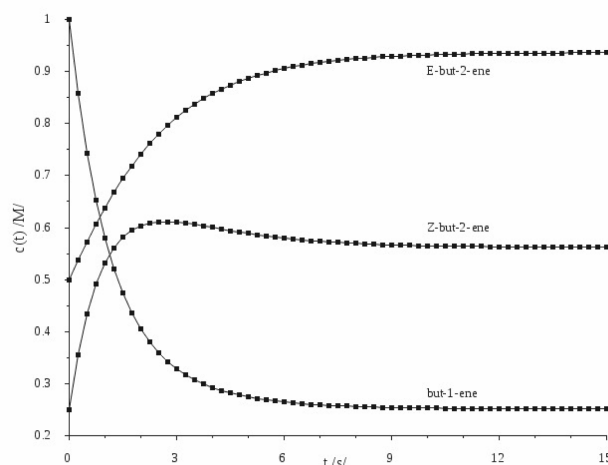
Most viszonylag egyszerű példaként nézzünk meg egy három komponenset tartalmazó izomerizációs reakcióhálózatot, a butén-izomerizációt, melyet más néven háromszögreakciónak is neveznek (1. Ábra)!



1. Ábra. A butén-izomerizáció mechanizmusa

Ez a folyamat $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ katalizátor jelenlétében játszódik le, melynek mechanizmusát már egy 1959-es munkában is megtalálhatjuk¹⁴. Ehhez később a sebességi együtthatókat is közölték¹⁵: $k_1 = 0,5327 \text{ s}^{-1}$, $k_2 = 0,2381 \text{ s}^{-1}$, $k_3 = 0,2892 \text{ s}^{-1}$, $k_4 = 0,1736 \text{ s}^{-1}$, $k_5 = 0,0515 \text{ s}^{-1}$, $k_6 = 0,1918 \text{ s}^{-1}$.

Hajtsunk végre a butén-izomerizációra egy szimulációs kísérletet! Induljunk ki a következő kezdeti koncentrációkból: $c_0(\text{but-1-én}) = 1,00 \text{ M}$, $c_0(\text{Z-but-2-én}) = 0,25 \text{ M}$ és $c_0(\text{E-but-2-én}) = 0,50 \text{ M}$. A szimuláció eredményét a 2. Ábrán láthatjuk.



2. Ábra. A butén-izomerizáció koncentrációprofilja.

A koncentrációprofilból kitűnik, hogy igen gyorsan beálló egyensúllal van dolgunk: 15 s után a függvényértékek már nem változnak számottevően. A sebességi együtthatók egymáshoz való viszonyait tükrözve a but-1-én mennyisége monoton csökken, a Z-but-2-éné maximumgörbét ír le, az E-but-2-én időbeli eloszlása pedig szigmoid jellegű. A hálózatra vonatkozó kényszerfeltétel, miszerint a koncentrációk összege minden időpillanatban megegyezik a kiindulási koncentrációk összegével (jelen esetben 1,75 M-rel), a számbázis hibán ($10^{-15} - 10^{-16}$) belül teljesül.

Megjegyezzük, hogy az *orto*-, a *meta*- és a *para*-xilol izomerizációja különböző ZSM-katalizátorokon is háromszögreakció, mely ipari szempontból is fontos folyamat.¹⁶

5. Összefoglalás

A fogalmak pontos definiálását követően felállítottunk egy általános modellt a monomolekulás reakcióhálózatok kinetikai viselkedésének leírására.

Ismertettük a rendszert leíró integrális anyagmérleg zárt alakját, mely $K \leq 5$ -ig egzaktul felírható, $K > 5$ esetén viszont numerikusan lokalizálандó sajátértékeket tartalmaz. Felhívtuk a figyelmet a megoldás stabilitásának problémájára, majd felvázoltunk egy olyan egyszerű kezelésmódot, mellyel a nemkívánt pozitív visszacsatolások kiszűrhetők. Végül egy izomerizációs hálózatra, a butén-izomerizációra végzett szimulációt mutattuk be. A kapott megoldásfüggvények alakja nemcsak a formálkinetikában érvényes: minden olyan modellhez hozzárendelhető, melyet elsőrendű lineáris differenciálegyenlet-rendszer ír le.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönik a TÁMOP kutatásaikhoz nyújtott támogatását (TÁMOP-4.2.2.A-11/KONV-2012-0047).

Hivatkozások

- Shibata, N., Yamamoto, T., Toru, T. *Heterocycl. Chem.* **2007**, 8, 73-97.

- Wei, J., Prater, C. *Adv. Catal.* **1962**, 13, 203-390.
- Eykholdt G. R., *Wat. Res.*, **1999**, 33, 814-826.
- Tóbiás, R., Tasi, Gy. *Magyar Kémikusok Lapja*, **2013**, 267-270.
- Chellaboina, V., Bhat, S. P., Haddad, W. M., Bernstein, D. S. *IEEE Control Syst. Mag.*, **2009**, 60-78.
- Tasi Gyula *Matematikai kémia*, JatePress Kiadó, Szeged, **2009**
- Hanka László, Zalay Miklós *Komplex függvénytan*, Műszaki Kiadó, Budapest, 2003
- Luther, U., Rost, C. *Electron. Trans. Numer. Anal.*, **2004**, 18, 91-100.
- Tasi Gyula *Számítógépes kémia*, JatePress Kiadó, Szeged, **2010**
- Kalman, D. *Math. Mag.*, **2000**, 73, 313-315.
- Krishnapriyan, H. K. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1995**, 35, 196-198.
- Fathi, A., Sharifan, N. *Appl. Comput. Math.*, **2013**, 2, 24-27.
- Bini, D., Boito, P., Eidelman, Y., Gemignani, L., Gohberg, I., *Lin. Alg. Appl.*, **2010**, 432, 2006-2031.
- Haag, W. O., Pines, H., *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 10, 2488-2494.
- Wei, J., Kuo, J. C. W., *I&EC Fundamentals*, **1969**, 8, 114-123.
- Beschmann, K., Rieckert L. *J. Cat.*, **1993**, 141, 548-565.

General formal kinetics modeling of monomolecular reaction systems

The phenomenon of isomerism is of great importance both in industry and pharmaceutical chemistry. To the knowledge of the exact isomer distribution, a correct mathematical and reaction kinetics description is necessary. In the present study, a general model is introduced for handling complex monomolecular reaction networks.

Let us consider a closed, homogeneous system with K chemical components and R elementary chemical reactions. The stoichiometric equations of our system are given by Eq. 2, where α is the vector of the chemical symbols of the components, $\alpha = \{A_j\}$, and S is the usual stoichiometric matrix, $S = \{v_{ij}\}$.

For a monomolecular reaction network, the stoichiometric matrix cannot be brought into block-diagonal form with the help of appropriate P and Q permutation matrices (see Eq. 3), and all the constituent elementary chemical reactions are monomolecular.

The concentration vector C of the chemical components, $C(t) = \{c_j(t)\}$, varies with time according to Eq. 5. In Eq. 5, S^T is the transpose of the stoichiometric matrix, and $p(t) = \{r_i(t)\}$ is the vector of the rates of the elementary chemical reactions, the components of which can be computed according to the law of mass action (Eq. 6). With introducing the Jacobian matrix $\Lambda = \{\partial c_j / \partial c_m\}$ of the concentrations, Eq. 5 can be transformed into Eq. 7. This matrix, however, can depend on C , i.e., $\Lambda = \Lambda[C(t)]$.

Our system of reactions will be kinetically relevant if eqs 8-10 are fulfilled. From these constraints it follows that our Λ Jacobian matrix will be singular at all instants. Furthermore, according to Eq.

12, Λ does not depend on the concentrations of the components for a monomolecular reaction network therefore Eq. 7 can be solved via the method of Laplace transformation (see eq. 14). Eq. 14 can be brought into Eq. 15 with simple operations. According to Eq. 16, matrix $\Lambda'(s)$ in Eq. 15 can be built up with the help of the eigenvalues of the Λ matrix. Therefore the main task is the solution of the eigenvalue equation of Λ .

Finally, performing inverse Laplace transformation, Eq. 17 supplies the concentrations of the chemical components at the instant t . After performing further simplifications, the concentrations for a monomolecular chemical network can be obtained according to Eq. 23. The concentration vector, the solution, can be expressed analytically up to five components otherwise the eigenvalues of the Λ matrix must be computed numerically. The accidental stability problem concerning the solution of the eigenvalue equation of Λ , and a suggestion for its treatment are also mentioned in the text.

As an example, isomerization reactions of butenes on Fig. 1 (1. Ábra) are solved by the new method presented. The reaction rate constants (k_f, k_o) were taken from the literature. The concentration profiles of butenes can be seen on Fig. 2. (2. Ábra). According to the concentration profiles, the equilibrium is reached within 15 seconds. While the concentration of but-1-ene decreases monotonically, the concentration profile of Z-but-2-ene has a maximum feature. The concentration profile of E-but-2-ene is sigmoid like.

It can be concluded that the shape of the solution is independent of the formal kinetics: it can be assigned to every model described by a system of first-order linear differential equations.

Réteges kettős hidroxidok – különleges, könnyen funkcionálizálható összetett anyagok

SIPI CZKI (ÁDOK) Mónika^{a,d}, BUGRIS Valéria^{b,d}, MÉSZÁROS Szilvia^b, SRANKÓ Dávid Ferenc^{a,d}, FERENCZ Zsolt^{c,d}, SZABADOS Márton^{c,d}, KUKOVECZ Ákos^{b,e}, KÓNYA Zoltán^{b,f}, SIPOS Pál^{a,d} és PÁLINKÓ István^{c,d,*}

^aSzervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Szegedi Tudományegyetem, 6720 Szeged, Dóm tér 7, Magyarország

^bAlkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszék, Szegedi Tudományegyetem, 6720 Szeged, Rerrich tér 1, Magyarország

^cSzerves Kémiai Tanszék, Szegedi Tudományegyetem, 6720 Szeged, Dóm tér 8, Magyarország

^dAnyag- és Oldatszerkezeti Kutatócsoport, Kémiai Tanszékcsoport, Szegedi Tudományegyetem, 6720 Szeged, Dóm tér 7-8, Magyarország

^eMTA-SZTE „Lendület” Pórusos Nanokompozit Kutatócsoport, 6720 Szeged, Rerrich tér 1, Magyarország

^fMTA-SZTE Reakciókinetikai és Felületkémiai Kutatócsoport, 6720 Szeged, Rerrich tér 1, Magyarország

1. Bevezetés

A réteges kettős hidroxidokat (layered double hydroxide – LDH), mivel anioncserére képesek, nem teljesen helyesen, gyakran hívják anionos rétegszilikátoknak a kationcserélő rétegszilikátok analógiájára.¹ Bár természetes eredetű LDH-k is vannak,^{2,3} ha kémiai alkalmazás a cél, akkor rendszerint mesterséges úton állítják elő őket. Az LDH-k szintéziséhez általában nedves kémiai eljárásokat használnak. A későbbiekben bemutatunk más, újszerű, nagyon hatékonyak és környezetbarátak bizonyuló módszereket is.

Az LDH-k leggyakrabban előforduló és használt képviselői a hidrotalcitok,⁴ melyek réteges szerkezete a brucit $[Mg(OH)_2]$ szerkezetéből származtatható úgy, hogy a $Mg(II)$ -ionok egy részét $Al(III)$ -ionokra cseréljük. A fémionok egy-egy oktaéder középpontját foglalják el, amelyet hidroxidionok vesznek körbe. Az oktaéderek éleik mentén csatlakozva alkotják a rétegeket. Amikor a kétértékű ion a $Ca(II)$ -ion, akkor az LDH-k szerkezete némileg más lesz, ezek lesznek a hidrokalumitszerű LDH-k.^{2,3,5-7} Itt a portlandit szerkezete lesz az alapszerkezet. Mivel a $Ca(II)$ -ion lényegesen nagyobb, mint a $Mg(II)$ -ion (100 pm vs. 72 pm), ezért a koordinációs száma hét lesz, így a rétegekben a $Ca(II)$ -ionokat hét, a háromértékű ionokat hat hidroxidion koordinálja. Mindkét szerkezetben a rétegek pozitív többlettöltéssel rendelkeznek, amelyet a rétegeközi térben lévő részlegesen hidratált egyszerű anionok kompenzálnak. Az ilyen LDH-kat fogjuk a továbbiakban „tisztá” LDH-knak nevezni. A rétegeközi anionok viszonylag könnyen kicserélhetők akár összetett szervetlen, akár nagyobb méretű szerves anionokra. Az ilyen anyagokat fogjuk interkalált vagy funkcionálizált LDH-knak nevezni.

Régóta ismert, hogy a réteges kettős hidroxidok hőkezelés hatására elveszítik réteges szerkezetüket. A folyamat követhető például termogravimetriásan, a kapott szerkezet pedig részben vagy teljesen röntgenamorf lesz. Az is ismert, hogy vízgőzzel telített térben vagy akár vízben kevertetve, a hőkezelt anyag visszanyeri réteges szerkezetét, ha a hőkezelés hőmérséklete nem volt túlságosan magas (általában nem magasabb, mint $\sim 600^\circ\text{C}$, de a pontos hőmérséklet

függ a vizsgált konkrét LDH-tól).^{8,9} Ezt nevezzük az LDH-k memória effektusának.¹⁰ A dehidratáció lépései elég jól ismertek részleteiben is,¹¹⁻¹⁶ ám ez nem így van a rehidratációval. A továbbiakban a rehidratáció mechanizmusával kapcsolatos eredményeinket is ismertetni fogjuk.

Az LDH-k, mind a „tisztá”, mind az interkalált változataik, sokféleképpen felhasználhatók. Lehetnek katalizátorok vagy katalizátorhordozók, de akár biológiai aktív vegyületek, avagy szerves szintonok hordozói, vagy szenzorok, elektródok, hogy csak egy pár alkalmazási lehetőséget említsünk. Munkánk során főként kétféle alkalmazási területre összpontosítottunk. Az egyik a katalitikus (itt használtunk hőkezelt és hőkezelés nélküli LDH-kat), a másik a nanoreaktorként történő alkalmazás volt. Az utóbbinál kihasználtuk azt, hogy a rétegeközi térbe juttatott szerves anyagok reakcióba léphetnek egymással, és a reakciók szelektivitását a korlátozottan rendelkezésre álló tér befolyásolhatja.

2. Eredmények és értékelésük

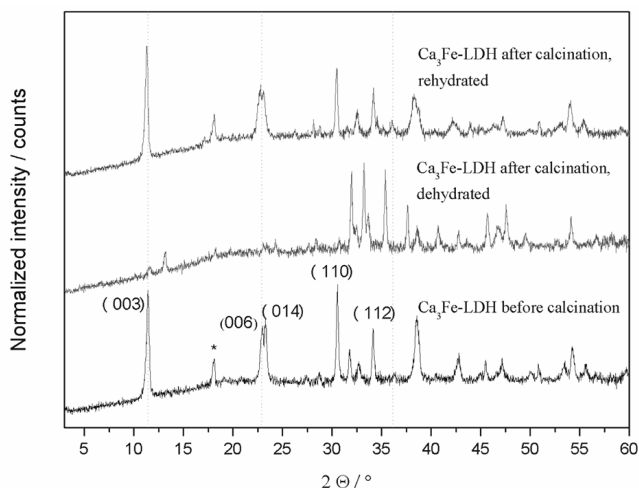
2.1. Hőkezelt (dehidratált) $CaFe$ -LDH rehidratálása

Az 500°C -os hőkezelés hatására a $CaFe$ -LDH elveszítette réteges szerkezetét, azonban vízben történő 24 óra hosszas kezelés után a réteges szerkezet teljes mértékben visszaállt (1. Ábra).

Ismeretes, hogy egy légszáraz LDH különféle formában köt meg vizet. Termogravimetriás mérések szerint a vímolekulák háromféleképpen helyezkedhetnek el (2. Ábra): a fizisorbeált vízmolekulák a 100°C – 150°C , a rétegek közötti vízmolekulák pedig a 175°C – 325°C hőmérséklettartományban távoznak el, míg a szerkezeti víz (valójában a szerkezetben lévő OH-csoportok, amelyek hőkezelés hatására víz formájában távoznak) pedig 350°C és 475°C között jelenik meg.

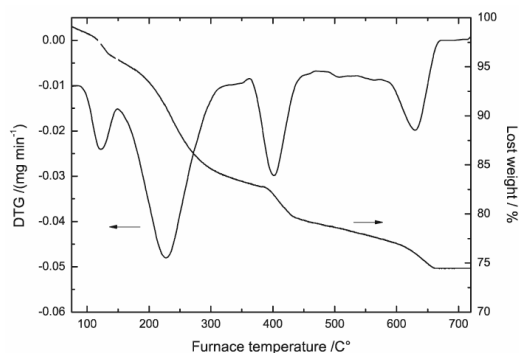
A hőmérséklet további emelése a szerkezet teljes összeomlását eredményezi, és ha a hőmérséklet már elég magas,

* Tel.: 62 544 288; fax: 544 200; e-mail: palinko@chem.u-szeged.hu



1. Ábra. A különféle módon kezelt $\text{Ca}_3\text{Fe-LDH}$ minta röntgen diffraktogramjai (alsó: frissen készített, középső: hőkezeléssel dehidratált, felső: újrahidratált).

akkor egy új, háromdimenziós kristályszerkezet kialakulása kezdődik meg. Látható, hogy egyik DTG csúcs sem éles, azaz a vízmolekulák kötési energiája nem azonos még egy csoporton belül sem. A vízmolekulák az LDH külső felületén fiziszorpcióval kötődnek meg, a deszorpció hőmérséklettartomány szélessége azt mutatja, hogy egynél több rétegben. A LDH rétegek közötti térben lévő vízmolekulák is egy viszonylag széles hőmérséklettartományban távoznak el, ami szintén azt jelenti, hogy itt sem egyetlen réteg vízmolekula, illetve egyetlen típusú vízmolekula környezet található. A szerkezeti vízmolekulák (szerkezeti OH-csoportok plusz a hozzájuk hidrogénhidakkal szorosan kötődő vízmolekulák) energiaeloszlása sem éles.



2. Ábra. A frissen készített, légszáraz CaFe-LDH minta TG-DTG görbéi.

1. Táblázat. A részlegesen újrahidratált CaFe-LDH minták hőkezelésekor kapott tömegesökkenés %-ban.

H_2O típus	relatív páratartalom/%											
	6	11	22	29	33	43	53	62	75	84	90	97
rétegek közötti/%	0	0	0,23	0,45	0,95	2,67	3,56	2,11	5,26	3,69	5,45	2,25
szerkezeti/%	nk	0,41	2,15	2,02	2,53	2,45	0,56	2,12	1,49	2,58	0,77	0,51

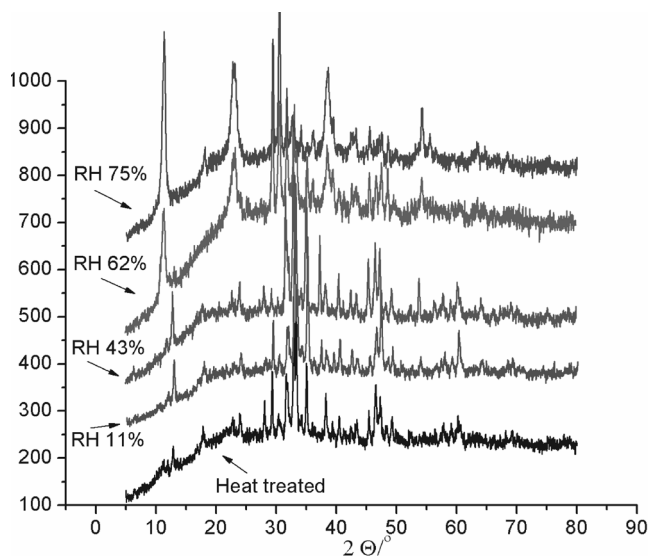
nk – nagyon kicsi

2.2. Katalikus átalakulások frissen készített (nem hőkezelt) LDH-kon

Az LDH-k többsége eredendően bázikus sajátosságú, így az LDH-k kitűnő bázikus katalizátorok lehetnek. A

A részlegesen újrahidratált minták röntgendiffraktogramjait mutatja be a 3. Ábra. Jól látható, hogy az LDH szerkezet kialakulása már a $\text{RH} = 11\%$ relatív páratartalomnál elkezdett kialakulni. A réteges szerkezet rekonstrukciója során először a dehidratált rétegek újrahidratálása történt meg, azután a vízmolekulák megjelentek a rétegek közötti térben, amelyet a 003 reflexió elmozdulása jelez a kisebb 2θ értékek felé. A réteges szerkezet $\text{RH} = 75\%$ relatív páratartalomnál pedig teljesen visszaállt. Bár a lépések a fent leírt sorrendben történtek, köztük az átfedés jelentős, kiváltképpen a nagyobb relatív páratartalomnál.

A részlegesen újrahidratált minták hőkezelésekor kapott adatokból levonható következtetések a fentiekkel teljesen egybeesnek (1. Táblázat).



3. Ábra. Részlegesen újrahidratált CaFe-LDH minták röntgen diffraktogramjai néhány relatív páratartalomnál (RH).

A fiziszorpcióval megkötött vízmolekulákon túl, már szerkezeti víz is jelen volt az $\text{RH} = 6\%$ relatív páratartalomnál újrahidratált LDH-ban. Mennyisége ugyan nagyon kicsi volt, de határozottan azt jelezte, hogy a rétegek újrahidratálása elkezdődött. Itt rétegek közötti vízre utaló jeleket nem láttunk. Vízmolekulák a rétegek közötti térben csak $\text{RH} = 22\%$ relatív páratartalomnál jelentek meg, és mennyiségük nőtt a relatív páratartalom növekedésével. Hamarosan túlnőtte a szerkezeti víz mennyiségét, amely elérte a közel állandó értéket az $\text{RH} = 33\text{--}43\%$ tartományban.

katalizátorkénti felhasználást leggyakrabban hőkezelés előzi meg. Ekkor, amint azt már az eddigiekben leírtakból tudjuk, a réteges szerkezet összeomlik, keverénoxid képződik, amely, mivel csak részlegesen kristályos, sok hibahelyet tartalmaz. A tapasztalható nagy katalitikus aktivitás ezeknek a

hibahelyeknek köszönhető. A frissen készített, nem hőkezelt LDH-k katalizátorkénti felhasználása sokkal ritkább, de azért előfordul. Az egyik ilyen esetben sokféle hidrotalcit szerkezetű nem hőkezelt M(II)Al-LDH (M(II): Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} vagy Fe^{2+}) bizonyult aktív katalizátornak fenol folyadékfázisú hidroxilezésében,²⁰ a MgAl-LDH-t pedig a 2-ciklohexén-1-on epoxidálásában találták aktívnak.²¹ Ez utóbbi esetben elég valószínűnek tűnik, hogy más nem kalcinált LDH-k is aktívak lehetnek, sőt, a reakció lejátszódhat sokféle oldó-szerben és hőmérsékleten. Az ide vonatkozó kutatásainkat ebben a három irányban folytattuk.

Egy olyan kísérletsorozatban, amelyikben az oldószer a metanol volt azt találtuk, hogy a frissen készített nem kalcinált CaFe-LDH volt a legaktívabb, itt a konverzió elérte a 36%-ot. Mindkét LDH-típus (CaAl-LDH – hidrokalamit, MgAl-LDH – hidrotalcit) nem hőkezelt változata aktívabb volt, mint a hőkezelt CaFe-LDH, világossá téve azt, hogy ebben a reakcióban a rétegek sértetlensége *sine qua non*. A Ca(II):Fe(III) arány csak kismértékben befolyásolta az epoxidálás sebességét, mindazonáltal a Ca_2Fe -LDH bizonyult a legaktívabbnak. Az széles körben ismert, hogy közel tökéletes hidrokalamit szerkezet csak ennél az aránynál alakul ki,²² azaz eszerint is a (közel tökéletes) rétegek megléte teszi ezt a reakciót leginkább kedvezményezetté. Ugyanakkor korábban kiderítettük, hogy a Ca(II):Fe(III) = 3:1 arány adja a legstabilisabb LDH-t,²³ és mivel az aktivitás csak kicsivel maradt el a Ca_3Fe -LDH-n esetén mérhetőtlől, hőmérséklet- és oldószerfüggési méréseinkhez a Ca_3Fe -LDH-t használtuk.

Hőmérsékletfüggési méréseinkből világossá vált, hogy az epoxidálás optimális hőmérséklete 313 K. Kiderült az is, hogy az oldószerválasztás jelentősen befolyásolja a reakció sebességét. A legmagasabb konverziót (58%) formamidban mértük, de a n-hexán (49%-os konverzió) és a ciklohexán (42%-os konverzió) is előnyösebb oldószer, mint a metanol, amely viszont előnyösebb, mint az etanol (27%-os konverzió). A többi megvizsgált oldószer, a 2-metil-2-propanol (<1%-os konverzió), az acetón (18%-os konverzió) és az 1,4-dioxán (12%) elönytelenebb vagy gyakorlatilag használhatatlan oldószernek bizonyultak.

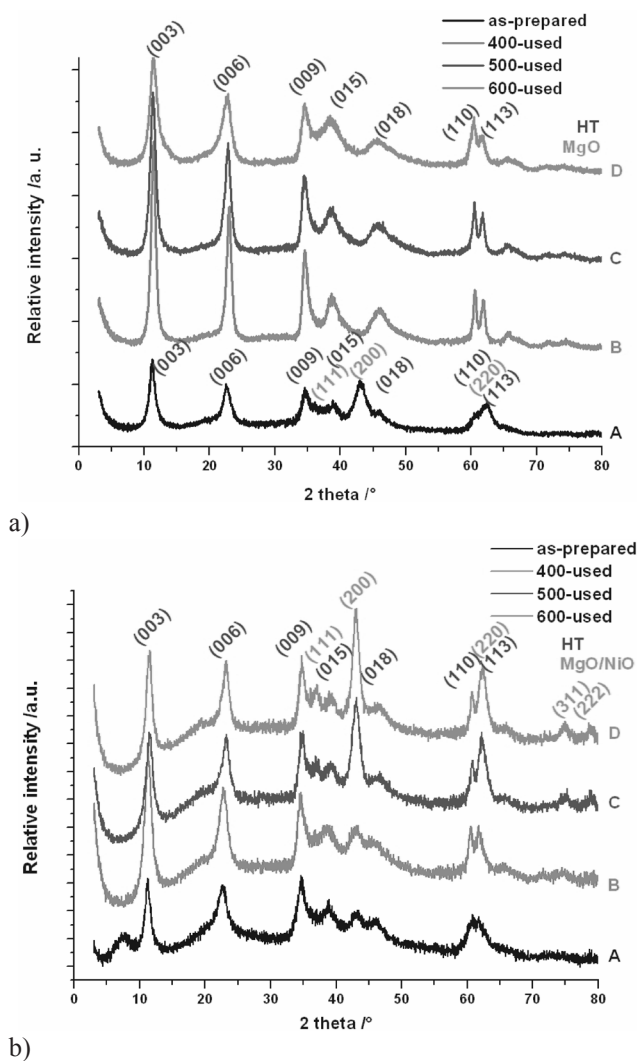
A formamidban mért nagy aktivitás valószínűleg annak köszönhető, hogy a réteges szerkezet ebben az oldószerben részlegesen delaminálódott (de az egyes rétegek nem sérültek), így a reaktáns molekulák könnyebben hozzáférhettek a katalitikus centrumokhoz.²⁴

2.3. Katalitikus átalakulások hőkezelt LDH-kon

A glicerín dehidratálási reakcióit hőkezelt MgAl- és NiMgAl-LDH-kon tanulmányoztuk. Röntgendiffrakto-metriás mérésekkel megmutattuk, hogy mindkét anyag szintézisekor valóban hidrotalcit szerkezetű réteges kettős hidroxidot kapunk. Az ilyen szerkezetre jellemző reflexiókat megjelöltük az 4 (a) és (b) Ábrák A jelű görbéin. A d(003) távolságok és az átlagos részecskeméretek a 2. Táblázatban olvashatóak.

Látható, hogy a MgAl-LDH majdnem teljesen tiszta, csak kevés MgO (periklász) szennyezést tartalmaz. Az éles és intenzív reflexiók az anyag nagyfokú kristályosságára

utalnak. A NiMgAl-LDH mintában a Ni^{2+} -ionok többsége a hidrotalcit szerkezetben található, abban a Mg^{2+} -ionok egy részét helyettesítik. Az előző anyaghoz hasonlóan ez is csak kis mennyiségű szennyezőt, NiO-t (bunzenit) tartalmaz.



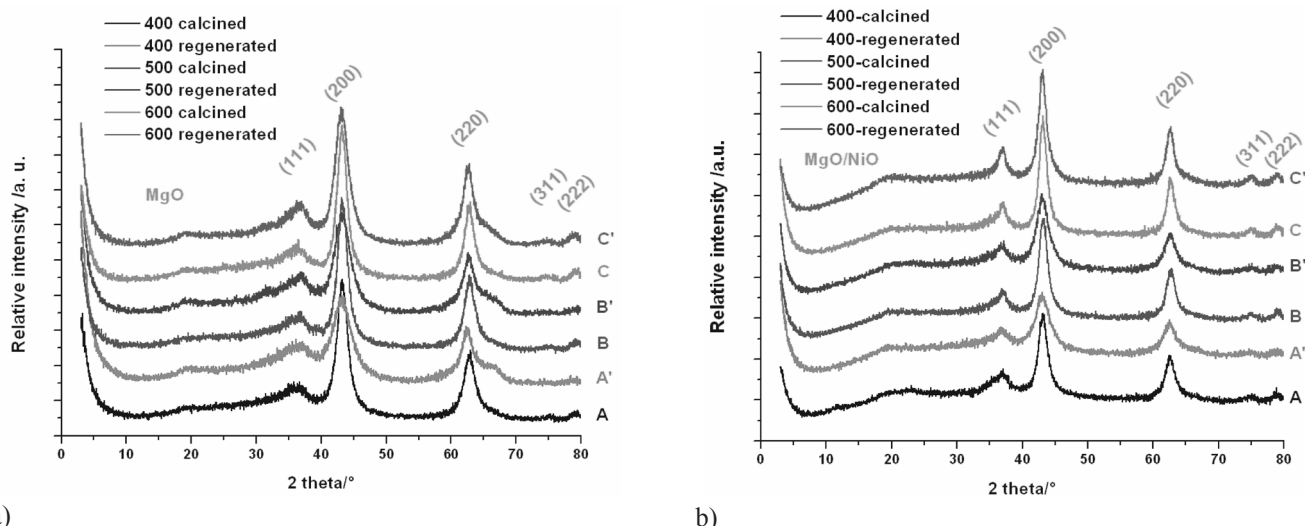
4. Ábra. MgAl-HT [MgAl-LDH] (a) és a NiMgAl-HT [NiMgAl-LDH] (b) hőkezelés előtt (A) és használat után (B – 400 °C-on hőkezelt, C – 500 °C-on hőkezelt, D – 600 °C-on hőkezelt).

2. Táblázat. A frissen készített, valamint a 400, 500 és 600 °C-on hőkezelt MgAl-LDH és NiMgAl-LDH minták részecskeméretei (D/nm) és d-távolságai (d/Å).

	frissen készített		400-használt		500-használt		600-használt	
LDHs	D	d(003)	D	d(003)	D	d(003)	D	d(003)
MgAl-	7,87	7,86	7,98	7,82	7,7,69	7,80	7,57	7,76
NiMgAl-	7,74	7,84	7,89	7,77	7,70	7,75	7,61	7,72

A 400 °C, 500 °C vagy 600 °C-on történő hőkezelés után (ezeket fogjuk úgy hívni a továbbiakban, hogy „new”), a hőkezelés hőmérsékletétől függetlenül csak periklász képződését tudtuk megfigyelni (5. (a) Ábra, A–C görbék)

Ez azt jelenti, hogy a keverékokban lévő Al^{3+} -ionok a MgO-on nagymértékben diszpergálódtak. Spinellképződést



5. **Ábra.** MgAl- (a) és NiMgAl-LDH- (b) különféle hőmérsékleteken (400 – 600 °C) történő előkezeléssel származtatható keverénoxidok (A–C görbék) és az újra hőkezeléssel regenerált keverénoxidok (A'–C' görbék) röntgendiffraktogramjai.

még a legmagasabb hőkezelési hőmérsékleten sem észleltünk. A NiMgAl-LDH hőkezelésekor olyan MgO-ból és NiO-ból álló keverénoxid keletkezett, amely jól diszpergált Al_2O_3 -ot tartalmazott (5. (b) Ábra).

A különféle hőmérsékletű hőkezelés során előállt keverénoxidok fajlagos felülete jelentősen megnőtt a frissen készített LDH-kéhoz képest (3. Táblázat, vedd össze a 2. oszlopot a „new” feliratú oszloppal). A fajlagos felület valamelyest csökkent a hőkezelés hőmérsékletének emelkedésével.

3. **Táblázat.** A frissen készített, a hőkezelt (new) és a regenerált (reg) MgAl-LDH és NiMgAl-LDH minták fajlagos felületei (m^2/g). A hőkezelési hőmérsékletek a fejrész első sorában láthatóak.

LDH-k	frissen készített	400°C			500°C			600°C		
		new	használt	reg.	new	használt	reg.	New	használt	reg.
MgAl-	71	216	102	195	189	98	176	183	89	171
NiMgAl-	50	188	65	158	179	82	155	167	77	148

4. **Táblázat.** A glicerín dehidratálási reakcióinak szelektivitása (%) MgAl- és NiMgAl-LDH hőkezelésével készült keverénoxidokon; AA=acetaldehid, ACR=akrolein, ALA=allil-alkohol, ACE=acetol (hidrox-aceton).

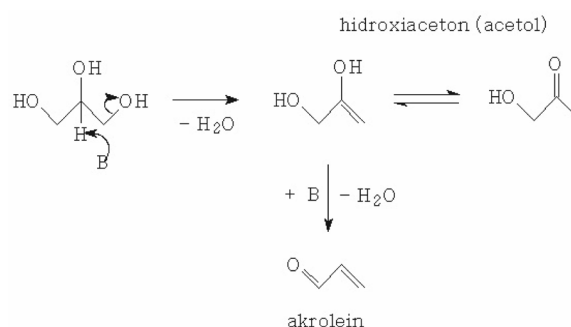
Hőkezelés/°C	Konverzió	AA	ACR	ALA	ACE	Egyéb
MgAl-LDH						
400	50,2	1,2	14,1	0,9	82,1	1,7
500	52,6	1,3	15,2	1,3	80,7	1,5
600	49,2	1,1	13,9	1,1	81,6	2,3
NiMgAl-LDH						
400	52,9	1,4	13,7	1,4	80,6	2,9
500	54,1	1,6	13,9	1,5	81,6	1,4
600	53,2	1,6	14,5	1,1	79,9	2,9

A többi, kisebb mennyiségben előforduló terméket is jórészt azonosítottuk (az anyagmérleg majdnem 100%-os volt). A dehidratáció előrehaladásával a desztillációs maradék egyre

Mielőtt a glicerín dehidratálási reakcióinak tárgyalásába kezdenénk, meg kell említenünk, hogy a glicerín bármiféle adalék nélkül is átalakul főként acetaldehidet és hidrox-acetont adva kb. azonos mennyiségben, mégpedig elég tekintélyes (30%) konverzióval. Keverénoxidjaink alkalmazásával a konverzió 50%-ra nőtt, és a szelektivitás nagymértékben megváltozott, mostmár a hidrox-aceton lett a főtermék, és elég nagy mennyiségben képződött akrolein is (4. Táblázat)

sötétebb lett és viszkozitása megnövekedett. Ezért állítottuk le a reakciót 120 perc eltelte után.

A főtermék hidrox-aceton valószínűleg a glicerín (báziskatalizált) E2 eliminációjával keletkezett, amelyet egy enol-oxo tautomer átalakulás követett.²⁵ Az akrolein képződhetett hidrox-acetonból egy másik vízmolekula eliminációjával (1. Séma).



1. **Séma.** A hidrox-aceton és az akrolein javasolt képződési útja a keverék-oxid bázikus (B) helyein.

Első ránézésre talán meglepő, hogy mindegyik keverénoxid visszanyerte réteges szerkezetét a dehidratálási reakció során, lényegében függetlenül attól, hogy milyen hőmérsékleten történt a hőkezelés (4 (a) és (b) Ábra, B–D görbék). Ráadásul a rekonstruált MgAl-LDH kristályossági foka is megnőtt, sőt a különálló MgO fázis lényegében eltűnt. A NiO fázis viszont jobban látható lett a rekonstruált NiMgAl-LDH mintában, mint az volt a frissen készítettben. Ezzel együtt mindkét anyagban a d(003) távolságok nagyon hasonlítottak a frissen készített minták esetén mért értékekhez, bár a részecskeméret némileg csökkent (2. Táblázat).

Figyelembe véve azt, hogy a glicerín dehidratálásakor keletkezik víz, a réteges szerkezet részleges visszaállása várható, a teljes vagy "a még jobb" (MgAl-LDH) szerkezet előállása azonban meglepő.

A rekonstruált szerkezetű anyagok újabb hőkezelésével az eredetihez hasonló, bár némileg kisebb fajlagos felületű keverénoxidokat nyertünk (3. Táblázat). Ezek a megismételt glicerín dehidratálási reakcióban a frissen előállított LDH-k hőkezelésével kapott keverénoxidéhoz hasonló (bár némileg kisebb) aktivitást mutattak (5. Táblázat).

Ezek a megfigyelések azt bizonyítják, hogy a hőkezelt MgAl-LDH és NiMgAl-LDH katalizátorként viselkedtek a glicerín dehidratálási reakcióiban. Jelenlétükben nemcsak a dehidratálás sebessége nőtt meg, hanem a szelektivitás is eltolódott a hidroxil-aceton és az akrolein képződésének irányába.

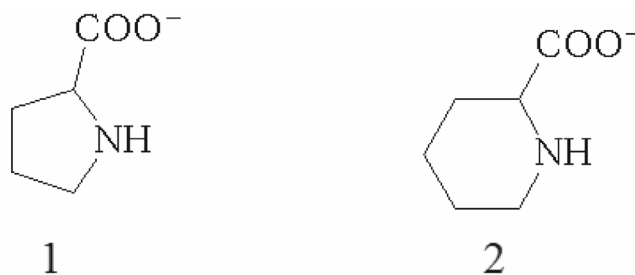
A regenerálási lépés a rekonstruált szerkezetű LDH-k újabb hőkezelése.

5. Táblázat. Konverzió és termékszelektivitás értékek (%) keverénoxidokon, amelyeket rekonstruált szerkezetű MgAl-, illetve NiMgAl-LDH-k újabb hőkezelésével kaptunk; AA=acetaldehid, ACR=akrolein, ALA=allilalkohol, ACE=acetol (hidroxil-aceton).

Hőkezelés/°C	Konverzió	AA	ACR	ALA	ACE	Egyéb
MgAl-LDH						
400	46,7	2,3	13,5	2,0	76,5	5,7
500	45,2	2,5	13,8	2,4	75,4	5,9
600	45,3	2,3	12,7	2,2	75,2	7,6
NiMgAl-LDH						
400	49,3	2,3	12,9	2,3	75,6	6,9
500	50,0	2,4	12,7	2,2	75,9	6,8
600	49,7	2,5	11,8	2,2	74,8	8,7

2.4. CaFe-LDH-ban immobilizált organokatalizátorok katalitikus tulajdonságai

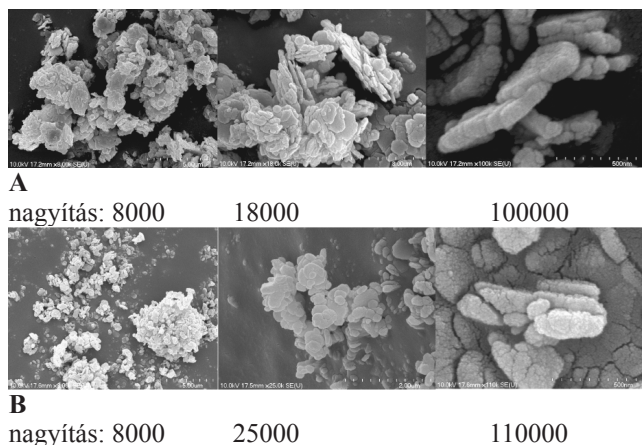
Egy sor műszeres módszerrel (XRD, SEM és SEM-EDX elemtérképek) bizonyítottuk, hogy valóban sikerült az L-prolinát (1), illetve a DL-pipecolinát (2) anionokat (6. Ábra) beépíteni a CaFe-LDH rétegek közé.



6. Ábra. A prolinát (1) és a pipecolinát (2) ionok szerkezeti képletei.

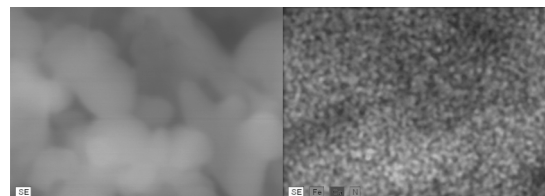
XRD mérések mutattak rétegtávolság-növekedést az anionok beépítése után, de csak kismértékűt (L-prolinát: 0,765 nm → 0,778 nm, DL-pipecolinát: 0,765 nm → 0,777 nm).

A különféle nagyítású SEM felvételek a 7. Ábrán láthatók. A réteges szerkezet még a legkisebb nagyítás esetén is jól látható. A legnagyobb nagyítással készült felvételeken úgy tűnik, mintha lenne szerves anyag az LDH külső felületén, de ez kevésbé valószínű, hiszen a dehidratálás-rehidratálás módszerével végrehajtott interkalálás után a mintákat alaposan mostuk, ráadásul a külső felület semleges, így erős elektrosztatikus kölcsönhatás fellépése nem várható.



7. Ábra. Az L-prolinát–CaFe-LDH (A), és a DL-pipecolinát–CaFe-LDH (B) különféle nagyítású SEM képei.

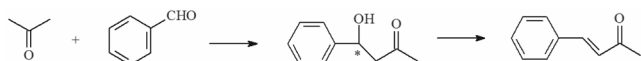
Az L-prolinát–CaFe-LDH minta 60000-szeres nagyítású SEM felvétele alapján készült Ca–Fe–N elemtérkép szerint szerves anyag volt a mintában, és eloszlása, a Ca-hoz és a Fe-hoz hasonlóan, egyenletes volt (8. Ábra). A helyzet ugyanez volt a DL-pipecolinát–CaFe-LDH minta esetén is.



8. Ábra. Az L-prolinát–CaFe-LDH minta (nagyítás: 60000) Fe–Ca–N elemtérképe.

A különféle mérésekből kapott információkat összehasonlítva biztosan állíthatjuk, hogy mindkét szerves sav anionját sikerült az LDH rétegek közé interkalálnunk.

A kapott szerves-szervetlen kompozitok katalitikus tulajdonságait benzaldehid és aceton keresztaldol dimerizációs-kondenzációs reakciójával (2. Séma) teszteltük.



2. Séma. Az aceton és a benzaldehid keresztaldol dimerizációs-kondenzációs reakciója.

Azt találtuk, hogy mindkét katalizátor aktív volt szobahőmérsékleten, és mind dimerizációs, mind kondenzációs termék keletkezett, ugyanakkor a „tisztá” LDH ugyanilyen körülmények között semmilyen aktivitást sem mutatott. Az L-prolinát-CaFe-LDH újrahasznosíthatóságát is vizsgáltuk. A tesztelés során kapott eredményeket a 6. Táblázatban foglaltuk össze.

6. Táblázat. Az L-prolinát-CaFe-LDH, illetve a DL-pipecolinát-LDH által katalizált, az aceton és benzaldehid között lejátszódó dimerizációs-kondenzációs reakcióban megfigyelt konverzió, szelektivitás és enantioselektív többlet (ee) adatok.

Anyagok	Konv. (%)	Szelektivitás (dimerizáció) (%)	Szelektivitás (kondenzáció) (%)	Ee (%)
CaFe-LDH	0	0	0	0
L-prolinát-CaFe-LDH				
frissen készített	3	85	15	53
újra I	19	88	12	12
újra II	59	76	23	6
DL-pipecolinát-CaFe-LDH	0.5	95	5	0

Szobahőmérsékleten, legalábbis kezdetben, mindkét interkalált anyag esetén kis aktivitást mértünk. Ugyanakkor az L-prolinát-CaFe-LDH dimerizációs szelektivitása kifejezetten nagy, enantioselektivitása pedig jelentős volt. Az újrafelhasználás során kismértékű dimerizációs szelektivitás- és jelentős mértékű enantioselektivitás-csökkenést tapasztaltunk. Ezek a tények könnyen értelmezhetők azzal a megfigyeléssel, hogy bázikus körülmények között a karboxilátion enolizálódik,¹⁸ így az α -helyzetű szénatom kiralitása megszűnik. Az LDH-k bázikus anyagok, így az enolizációt katalizálják.

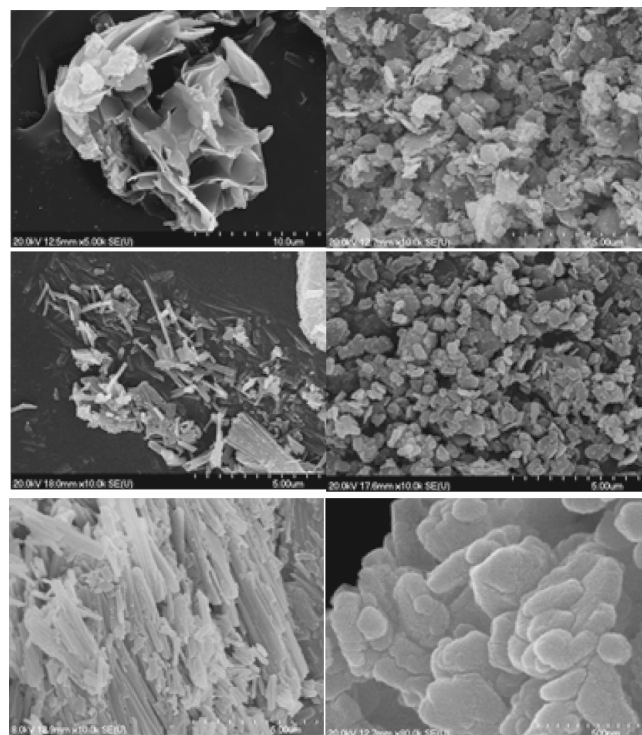
Ugyan a DL-pipecolinát-CaFe-LDH kis aktivitású katalizátornak bizonyult a tesztreakcióban, de kondenzációs szelektivitása igen nagy volt. Mivel a beépített anion racemát volt, így a dimerizációs termék is racemát lett.

2.5. A CaFe-LDH, mint nanoreaktor – fotoiniciált [2+2] topotaktikus ciklizáció

A „tisztá” CaFe-LDH, az interkalátlan akrilsav sók és az interkalált rendszerek jellemzésére használt XRD, SEM, FT-IR és SEM-EDX mérésekből nyert információk együttesével bizonyítottuk, hogy minden akrilátiont (az ionokat jelző számokhoz tartozó szerkezeteket lásd a 12. Ábrán) sikerült a rétegek közé építenünk. A 6–8 anionok esetére megmutatjuk, hogy az interkalálás nem változtatta meg a gazdaanyag réteges szerkezetét (SEM), a beépített akrilátszármazékok nem bomlottak el (FT-IR), valóban a

rétegek közé kerültek (XRD és SEM), és ott eloszlásuk egyenletes volt (SEM-EDX elemterképek). Az 3–5 anionok esetén ugyanilyen mérések szolgáltatták a fentiekkel megegyező érvrendszert.²⁷

A 6 anion esetén már az XRD mérés egyértelművé tette, hogy az interkaláció sikeres volt, ugyanis a (003) reflexió az alacsonyabb 2 θ értékek felé mozdult el, ami rétegtávolságnövekedést jelent [a d(003) távolság megnövekedett 0,77 nm-ről 1,57 nm-re]. A helyzet nem ennyire világos az 7 és 8 anionok interkalálása esetén, ugyanis itt (003) reflexió helyzete nem változott a dehidratációs-rehidratációs interkalációs protokoll végrehajtása után. FT-IR spektroszkópiás mérések azonban azt mutatták, hogy van szerves anyag a mintákban a 7 és 8 anionok interkalálása esetén is, ám az nem dönthető el, hogy az ionok vajon a rétegek között vannak-e vagy az LDH külső felületén kötődtek meg. A SEM-EDX elemterképek szerint is van szerves anyag a mintában, hiszen a megfelelő anyagokhoz rendelt elemterképek a S, a N és a C jelenlétét is igazolják. Első ránézésre azonban az még mindig állítható, hogy a szerves anion a rétegek között helyezkedik el. Az, hogy az EDX spektrumokban nincs Na, már egy erős jelzés, hogy az anion (természetesen a Na⁺ ellenionjával együtt) nem az LDH külső felületén van, hiszen a rétegek között lévő anion töltésének kompenzálása már a rétegek többlet pozitív töltésével történik. A végső bizonyíték az interkalálás sikerességére azonban az, hogy a SEM felvételek szerint a kristályos Na-sók morfológiája jelentősen eltér mind a „tisztá”, mind a szerves anyaggal kezelt LDH morfológiájától, ráadásul az utóbbi két anyag morfológiája nagyon hasonló (9. Ábra). Mindezek együtt egyértelműen bizonyítják, hogy az 7 és 8 anionok interkalációja is sikeres volt.

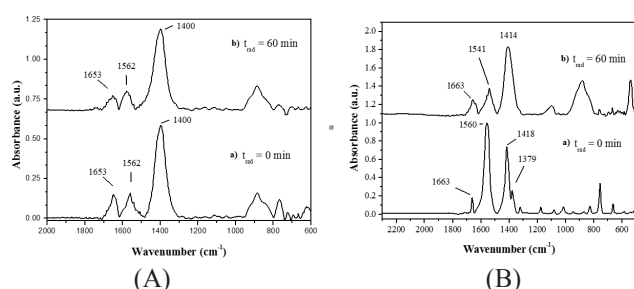


9. Ábra. A a) Na-akrilátok és b) dehidratációs-rehidratációs interkalációs protokoll végrehajtása után kapott anyagok SEM képei a (A) 6, (B) 7 és (C) 8 anionok esetén.

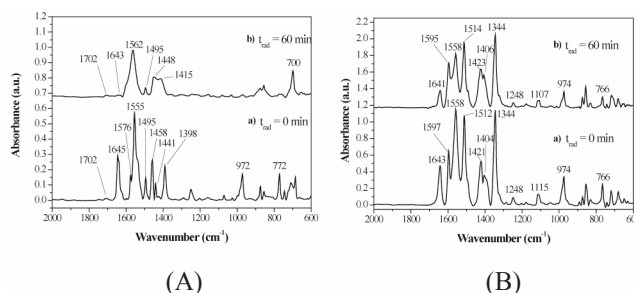
Az **3–8** anionok ciklodimerizációs reakcióit, mind kristályos formájukban, mind az LDH-ba interkaláltan, infravörös spektrometriásan követtük, mégpedig a C=C kettőskötés nyújtórezgésének ($1641\text{--}1663\text{ cm}^{-1}$) intenzitás-csökkenésével (10. és 11. Ábrák).

A kristályos Na-sók közül a **8** anion ciklodimerizációja 60 perc alatt lejátszódott, de semmilyen reakció sem történt az **7** anionnal. Interkalálás után a **8** anion sem mutatott fotoindukált ciklodimerizációs aktivitást (10. Ábra).

Fénybesugárzás hatására az **3–6** anionok kristályos Na-sóinak mindegyike mutatott ciklodimerizációs aktivitást, és a [2+2] ciklizáció lejátszódott az LDH rétegei között is (11. Ábra). A reakció teljesen végbement a **3**-CaFe-LDH és **5**-CaFe-LDH és majdnem teljesen a **6**-CaFe-LDH esetén. A konverzió jelentős volt a **4**-CaFe-LDH esetén is.



10. Ábra. Az (A) **7**-CaFe-LDH és a (B) **8**-CaFe-LDH különbségi IR spektrumai (a tiszta CaFe-LDH spektrumát kivontuk) a) fotolízis előtt és b) 60 perces fotolízis után.



11. Ábra. A (A) **3**-CaFe-LDH, (B) **4**-CaFe-LDH, (C) **5**-CaFe-LDH és (D) **6**-CaFe-LDH különbségi IR spektrumai (a tiszta CaFe-LDH spektrumát kivontuk) a) fotolízis előtt és b) 60 perces fotolízis után.

Az interkalált **7** és **8** anionok nem fotodimerizáltak, mert az olefinkötések nem tudtak kellően közel kerülni egymáshoz, így nem volt esély topotaktikus reakció lejátszódására.

Meg kell jegyeznünk, hogy a fénybesugárzás hatására E–Z izomerizáció is végbemehet. Hogy ez megtörtént-e vagy sem, azt az IR spektrumok alapján nem tudjuk eldönteni. Ha ezt mégis muszáj lenne megkísérelnünk, akkor azt mon-

danánk, hogy ez az izomerizáció még ha végbemegy is, nem lehet jelentős, mert új C=C nyújtórezgés jele nem vehető észre a spektrumokon.

3. Kísérleti rész

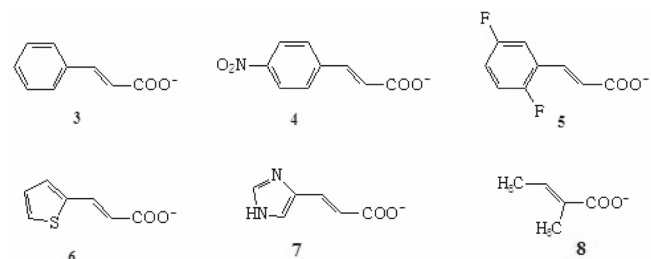
3.1. A felhasznált anyagok

Az LDH-k szintéziséhez felhasznált összes szervetlen vegyület (CaCl_2 , $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NaOH és Na_2CO_3) Reanal termék volt.

A glicerín dehidratálási reakció során felhasznált, illetve keletkezett vegyületek (glicerín, acetol, akrolein, acetaldehid) Aldrich termékek voltak. A vegyületek tisztasága legalább 90%-os volt. Felhasználásuk előtt további tisztítás nem történt.

Az L-prolin és a DL-pipecolinsav (Aldrich) 99%-os tisztaságú volt. A savakat felhasználásuk előtt Na-sóvá alakítottuk.

Az interkalációra felhasznált akrilátszármazékok [E-3-fenil-propenoát (**3**), E-4'-nitro-fenil-propenoát (**4**), E-3(2',5'-difluor-fenil)-propenoát (**5**), E-3(2'-tienil)-propenoát (**6**), E-3(4'-imidazolil)-propenoát (**7**) és E-2,3-dimetil-propenoát (**8**)] is Aldrich termékek voltak (12. Ábra).



12. Ábra. Az akrilát–CaFe-LDH szerves-szervetlen hibridek előállításához használt szerves akrilátszármazékok.

Millipore MilliQ desztillált vizet használtunk kísérleti munkánk során.

3.2. Szintézis- és szerkezetmódosítási módszerek

Szintézisek. A „tisztá” LDH-k (CaFe-, CaAl-, MgAl-, NiMgAl-LDH) fő szintézismódszere az együttes lecsapás volt.^{17,18} Egy részletes recept a következő (ezt használtuk a MgAl-LDH és a NiMgAl-LDH előállítására): 500 cm^3 $0,20\text{ mol}$ ($53,2\text{ g}$) $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ -ot és $0,10\text{ mol}$ ($38,9\text{ g}$) $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ -t tartalmazó oldatot (A oldat) and 250 cm^3 $0,05\text{ mol}$ ($5,5\text{ g}$) Na_2CO_3 -ot és $0,62\text{ mol}$ ($24,9\text{ g}$) NaOH -ot tartalmazó oldathoz (B oldat) adunk 2-3 óra alatt, intenzív keverés közben, jeges hűtést alkalmazva. Ekkor egy gél keletkezett, amelyet olajfürdőn $65\text{ }^\circ\text{C}$ -ra melegítettünk, és még 18 óra hosszat kevertettük. Lehűlés után a szilárd anyagot mostuk, szűrtük és szárítottuk. A NiMgAl-LDH szintézisekor a Mg-só $10\text{ mol}\%$ -át $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ -tal helyettesítettük.

Fázistiszta LDH-khoz jutottunk őrléssel (Retsch MM 400-as keverőmalom), azaz egy mechanokémiai eljárással.

Ekkor a komponensek hidroxidjait egy kétlépéses őrlési eljárásnak vetettük alá. Először száraz őrlést végeztünk – csak a fémhidroxidok voltak jelen; majd az eljárást kevés víz (néhány µl) hozzáadása után nedves őrléssel fejeztük be. Víz hozzáadása nélkül, azaz a nedves őrlés elhagyásakor, nem képződtek LDH-k. Az őrlési időket, a hidroxid/golyó tömegarányt, a hozzáadott víz mennyiségét, és a rázás frekvenciáját egyaránt optimalizáltuk.

Egy külön kísérletsorozatban a száraz őrlés után a mintákat ultrahangos kezelésnek vetettük alá, és így is sikeresen állítottunk elő fázistiszta LDH-kat.

Dehidratáció-rehidratáció. A frissen készített CaFe-LDH mintát száraz levegőn, 773 K-en 5 óra hosszáig hőkezeltük. Ezután a hőkezelt mintát részekre osztottuk és egy-egy részletet zárt edényekben, különféle sók túltelített vizes oldatának gőzterében tartottunk 72 óra hosszat, 298 K-ben. A túltelített sóoldatok által szolgáltatott relatív páratartalmak a következők voltak: 6% ($\text{LiBr} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 11% ($\text{LiCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$), 22% (CH_3COONa), 29% ($\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 33% ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 38% ($\text{NaI} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 43% (K_2CO_3), 53% ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 62% (NH_4NO_3), 75% (NaCl), 84% (KCl) és 97% (K_2SO_4).¹⁹

Hőkezelés (kalcinálás). A MgAl-LDH és NiMgAl-LDH mintákat levegőben hőkezeltük 24 óra hosszat 400 °C, 500 °C vagy 600 °C hőmérsékleteken azért, hogy a réteges szerkezet elroncsolásával keverékk oxidokat nyerjünk.

Interkaláció. A dehidratációs-rehidratációs módszert alkalmaztuk a szerves anionok rétegek közötti térbe juttatására. Az előzőleg kimosott száraz LDH port egy Thermolyne 21100 csökemencében 5-6 óra hosszat 493 K-en vagy 773 K-en tartottuk. Ezt az LDH port adtuk a szerves anion (akrilátszármazék vagy L-prolinát vagy DL-pipecolinát) vizes-etanolos oldatához (víz:etanol:NaOH = 5:1:1). A szuszpenziót inert atmoszférában 7 napig kevertettük 353 K hőmérsékleten. Ezután a szilárd anyagot kiszűrtük, mostuk háromszor, szárítottuk és felhasználásig száraz SiO_2 fölött exsikkátorban tároltuk.

3.3. Mintajellemzési módszerek és eszközök

A frissen készített, a teljesen dehidratált és a részlegesen rehidratált és az interkalált minták röntgen-diffraktogramjait egy Rigaku Miniflex II porröntgen diffraktométeren rögzítettük a $2\theta = 3\text{--}60^\circ$ szögterületben, $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) sugárzást használva.

A frissen készített, a részlegesen rehidratált és az interkalált minták termikus viselkedését egy Setaram Labsys derivatográf segítségével tanulmányoztuk, N_2 -áramban, $2^\circ\text{C}/\text{min}$ fűtési sebességet és 30–40 mg mintát alkalmazva.

Pásztázó elektronmikroszkópiát (SEM – Hitachi S-4700 pásztázó elektronmikroszkóp) használtunk mintáink morfológiájának jellemzésére. A mikroszkóphoz kapcsolt energiadiszipatív röntgenfluoreszcenciás analizátor (EDX – Röntec QX2) tette lehetővé mintáink elemterképeinek elkészítését.

A „tisztá”, a szerves anionokkal interkalált LDH-k és a Na-sók infravörös spektrumait egy reflexiós üzemmódban

működő BIORAD FTS-65A/896 spektrométerrel vettük fel. A DTGS detektorral felszerelt spektrométer spektrális felbontása 2 cm^{-1} volt, egy spektrumot 256 interferogramból állítottunk elő.

A szerves anionok méretét molekulamodellezéssel, az optimális geometria megtalálása (PM3 szememprikus kvantumkémiai számítások) után határoztuk meg.

A releváns LDH minták Fe(III)-ion tartalmát egy Thermo's IRIS Intrepid II ICP-OES spektrométerrel határoztuk meg.

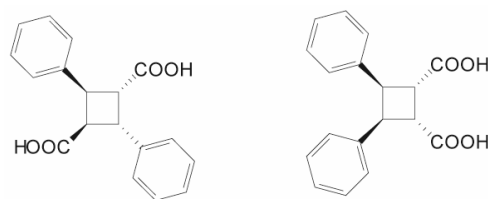
3.4. A reakciók, a reakciók körülményei és a termék-analízis

Egy telítetlen keton epoxidációja. Hőkezelés nélküli, „tisztá” MgAl-, CaAl- és CaFe-LDH mintákat teszteltünk a 2-ciklohexén-1-on (Aldrich) H_2O_2 vizes oldatával történő epoxidációs reakciójában, enyhe reakciókörülmények között (298 K, 2 h, intenzív keverés) különféle oldószerekben (metanol, etanol, 2-metil-2-propanol, acetone, formamid, 1,4-dioxán, ciklohexán, n-hexán – valamennyi Aldrich termék). A reakciósebesség hőmérsékletfüggését is megvizsgáltuk a 288–343 K hőmérséklettartományban. A reakciót gázkromatográfiásan követtük (GC – Hewlett-Packard 5890 Series II – HP1 oszlop, lángionizációs detektor).

A glicerín átalakulásai. A glicerín MgAl- és NiMgAl-LDH-katalizálta átalakulásait egy kétnyakú lombikot használva reaktorként vizsgáltuk. A lombikból kidesztillált anyagot hűtött csapdában fogtuk fel, majd ezt és a desztillációs maradékot analizáltuk. Ez a reaktív desztilláció módszere. A reakcióidő 120 perc volt. A mennyiségi és minőségi analízishez gázkromatográfot használtunk (Shimadzu GC 2010 – SPB624 [Supelco] oszlop, lángionizációs detektor).

Keresztaldol dimerizáció-kondenzáció. A szerves anionokkal interkalált anyagokat a benzaldehid és acetone keresztaldol dimerizációs-kondenzációs reakciójában vizsgáltuk. A reakcióelegy összetétele a következő volt: $1 \text{ cm}^3 \text{ H}_2\text{O}$, 4 cm^3 acetone, 1 cm^3 benzaldehid, 0,3 g katalizátor. Az elegyet 298 K-en 24 óra hosszat intenzíven kevertettük. Az acetone volt a reaktáns és az oldószer is, protonforrásként a víz szolgált. Az L-prolinát–CaFe-LDH-t további két alkalommal használtuk fel újra úgy, hogy a reakciók között csupán acetoneos öblítés történt. A keverék összetételét egy YL6100GC-6000 gázkromatográf (Cyclo-sil B oszlop, tömegszelektív és lángionizációs detektor) segítségével határoztuk meg.

Az LDH-ba interkalált akrilácionok topotaktikus [2+2] fotodimerizációja (3. Séma). A szilárdfázisú reakciókat végrehajtottuk az interkalált vegyületekkel és – az összehasonlítás kedvéért – az interkalátlan szerves anionokkal egyaránt.



3. Séma. Az E-fahéjsav két fotodimerje (E-2-fenil-propénsav).

2 mg mintát 200 mg KBr-dal hígítva tablettáztunk. A tablettákat 5–90 percig egy nem melegítő xenon fényforrással (MAX-302, Asahi Spectra USA, 300 W) sugároztuk be, amely a 220–400 nm hullámhossz-tartományba eső fényt bocsátott ki. A besugárzott minta és a fényforrás közötti távolság állandó (25 cm) volt. A fotokémiai reakciót FT-IR spektroszkópiával követtük.

4. Összefoglalás

A fentiekből jól látható, hogy az LDH-k sokféleképpen alakítható anyagok. Szintézisük viszonylag egyszerű, és szerkezetük módosítható sem túl nehéz. Sokféle területen alkalmazhatók, és még ha csak a katalízis szűk területét tekintjük, sokoldalúságuk akkor is figyelemre méltó. Akár a „tisztá” nem hőkezelt vagy hőkezelt, akár szerves anionokkal módosított változatait vesszük, ezek az anyagok sokféle, szintetikus szempontból is fontos átalakulást képesek katalizálni. Sőt az LDH-k rétegek közötti tere számos átalakulás szelektivitását is képes megnövelni. Ebben a közleményben igyekeztünk képet adni eredményeinkről ezen a területen. További részletek bőséggel találhatók a tárgykörben írt eredeti közleményeinkben.^{18,23,27–33}

Köszönetnyilvánítás

Kutatásainkat támogatta az Országos Tudományos Kutatási Alap (OTKA NK 106234) és az Európai Unió által társfinanszírozott TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047 kutatási pályázat.

Hivatkozások

- Evans, D.G.; Slade, R.C.T.; *Struct. Bond.* **2006**, *119*, 1.
- Taylor, W.H.F. *Mineral. Mag.* **1969**, *37*, 338.
- Taylor, W.H.F. *Mineral. Mag.* **1973**, *39*, 377.
- Brown, G.; Gastuche, M.C. *Clay Miner.* **1967**, *7*, 193.
- Rousselot, I.; Taviot-Guého, C.; Leroux, F.; Léone, P.; Palvadeau, P.; Besse, J.-P. *J. Solid State Chem.* **2002**, *167*, 134.
- Vieille, L.; Moujahid, E.M.; Taviot-Guého, C.; Cellier, J.; Besse, J.-P.; Leroux, F. *J. Phys. Chem. Solids* **2004**, *65*, 385.
- Kim, T.-H.; Heo, I.; Paek, S.-M.; Park, C.-B.; Choi, A.-J.; Lee, S.-H.; Choy, J.-H.; Oh, J.-M. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2012**, *33*, 1845.

- Corma, A.; Fairness, V.; Martín-Aranda, R.M.; Frey, F. J. *Catal.* **1992**, *134*, 58.
- Roelofs, J.C.A.; Lensveld, D.J.; van Dillen, A.J.; de Jong, K.P. *J. Catal.* **2011**, *203*, 184.
- Miyata, S. *Clays Clay Miner.* **1980**, *28*, 50.
- Reichle, W.T. *Chem. Tech.* **1986**, *16*, 58.
- Cavanni, F.; Trifiro, F.; Vaccari, A. *Catal. Today* **1991**, *11*, 173.
- Vaccari, A. *Chem. Ind.* **1992**, *74*, 174.
- Vaccari, A. *Catal. Today* **1998**, *41*, 53.
- Vaccari, A. *Appl. Clay Sci.* **1999**, *14*, 161.
- Chiang, M.-F.; Wu, T.-M. *Appl. Clay Sci.* **2011**, *51*, 330.
- Dimotakis, E.D.; Pinnavaia, T.J., *Inorg. Chem.* **1990**, *29*, 2393.
- Sipiczki, M.; Srankó, D.F.; Kukovecz, Á.; Kónya, Z.; Sipos, P.; Pálkó, I. *Chem. Pap.* **2011**, *65*, 840.
- CRC Handbook of Chemistry and Physics* (Lide, D.R. editor-in-chief), CRC Press LLC, Boca Raton, USA, pp. 15–25, 2000.
- Zhu, K.; Liu, C.; Ye, X.; Wu, Y. *Appl. Catal. A* **1998**, *168*, 365.
- Yamaguchi, K.; Mori, K.; Mizugaki, T.; Ebitani, K.; Kaneda, K. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 6897.
- Rousselot, I.; Taviot-Guého, C.; Leroux, F.; Léone, P.; Palvadeu, P.; Besse, J.-P. *J. Solid State Chem.* **2002**, *167*, 137.
- Sipiczki, M.; Kuzmann, E.; Homonnay, Z.; Megyeri, J.; Pálkó, I.; Sipos, P. *J. Mol. Struct.* **2013**, *1044*, 116.
- Wypych, F.; Bubniak, G.A.; Halma, M.; Nakagaki, S. *J. Coll. Int. Sci.* **2003**, *264*, 203.
- Dasari, M.A.; Kiatsimkul, P.-P.; Sutterlin, W.-R.; Suppes, G.J. *Appl. Catal. A* **2005**, *281*, 225.
- Bruckner, R. in *Organic Reaction Mechanisms. Reactions, Stereochemistry and Synthesis*, (Harmata, M. ed.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, p. 530, 2010.
- Srankó, D.F.; Muráth, Sz.; Sipiczki, M.; Szabó, M.; Kukovecz, Á.; Kónya, Z.; Sipos, P.; Pálkó, I. *Mater. Sci. Forum* **2013**, *730-732*, 65.
- Sipiczki, M.; Srankó, D.F.; Szöllösi, Gy.; Kukovecz, Á.; Kónya, Z.; Sipos, P.; Pálkó, I. *Top. Catal.* **2012**, *55*, 858.
- Srankó, D.F.; Canton, S.; Enghdal, A.; Kukovecz, Á.; Kónya, Z.; Muráth, Sz.; Sipiczki, M.; Sipos, P.; Pálkó, I. *J. Mol. Struct.* **2013**, *1044*, 279.
- Bugris, V.; Haspel, H.; Kukovecz, Á.; Kónya, Z.; Sipiczki, M.; Sipos, P.; Pálkó, I. *J. Mol. Struct.* **2013**, *1044*, 21.
- Bugris, V.; Haspel, H.; Kukovecz, Á.; Kónya, Z.; Sipiczki, M.; Sipos, P.; Pálkó, I. *Langmuir* **2013**, *29*, 13315.
- Mészáros, Sz.; Halász, J.; Kónya, Z.; Sipos, P.; Pálkó, I. *Appl. Clay Sci.* **2013**, *80-81*, 245.
- Sipiczki, M.; Ádám, A.A.; Anitcs, T.; Csendes, Z.; Peintler, G.; Sipos, P.; Pálkó, I. *Catal. Today*, nyomdában, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cattod.2014.02.031>.

Layered double hydroxides – peculiar materials that can be functionalized easily

Our recent activities in the synthesis and some applications of pristine as well as functionalised layered double hydroxides (LDHs) are overviewed.

Besides the usual synthetic methods (co-precipitation, dehydration-rehydration) a mechanochemical route for the synthesis of LDHs and their intercalated varieties, occasionally combined with ultrasound treatment, has been developed and applied. It was found that grinding of the components either in a mixer mill or in an agate mortar can only provide with LDHs if some water was applied. Dry grinding was helpful in homogenising the mixture of precursors, however, the subsequent wet grinding was found to be the key

step in the LDH producing procedure. The power of the method could be verified in the smooth synthesis of Ca(II)Sn(IV)-LDH, which was unsuccessful by the traditional wet chemical method. The mechanochemical methods (both the combination of dry and wet milling and manual grinding of the components in an agate mortar) worked well in the preparation of intercalated organic-inorganic host-guest complexes. It is to be noted, however, that the majority of the intercalated materials discussed here was made by the more commonly used dehydration-rehydration method. Finally, it is important to mention that the solid-phase syntheses of the LDHs described in this contribution were also successful, when ultrasound irradiation was applied instead of grinding. This

synthetic pathway proved to be suitable for the production of phase-clean LDHs, too.

During our work large variety of layered double hydroxides, both the hydrocalumite- and the hydrotalcite-types were prepared. Some of the materials were used as-prepared, some were applied as host materials of various organic anions, others were used after heat treatment and, in some instances, the reconstruction behaviour of the heat-treated substances was also investigated. The obtained materials were thoroughly characterised by a range of state-of-the-art instrumental methods including scanning and transmission electron microscopies, energy-dispersive X-ray analysis, X-ray diffractometry and Fourier-transform infrared spectroscopy. Molecular modelling was used to determine the orientation of the intercalated organic anions among the layer of LDH samples. Details of the dehydration-rehydration procedure have also been investigated using the CaFe-LDH as the example.

Among the characterisation techniques, X-ray diffractometry was the most important method. The LDH-specific reflections were used to verify the success of syntheses, to follow the transformation on heat treatment as well as the intercalation procedure. In most instances, the other techniques served as auxiliary characterisation methods. In some cases, however, the combination of X-ray diffractometry, scanning electron microscopy, infrared spectroscopy and elemental maps had to be used to judge whether the intercalation of organic anions into the LDH was successful or not.

The detailed study on the rehydration of dehydrated CaFe-LDH (generally, this area of LDH research was largely neglected as the corresponding scientific literature attests) was performed with the combination of thermal methods and infrared spectroscopy on partially rehydrated samples. It was possible to identify the various water types and their roles in the reconstruction of the LDH structure. Moreover, from dielectric relaxation measurements on flash-cooled partially rehydrated samples allowed to warm up to room temperature gradually, it was possible to gain information on the dynamics of the various water types.

Catalytic studies using LDHs were conducted in two directions. One of them was the investigation of the applicability of the as-prepared LDH. Here, it was hoped that if compounds with multiple functionalities are used, then, the LDH can enhance selectivity in

one of the directions, and, perhaps, the potential shape selectivity due to the constrained environment of the interlayer space can be exploited as well. The other one was the most common usage, i.e. destroying the layered structure with heat treatment; then, partially crystalline mixed oxide is formed with many defects, and then, use this material as catalyst.

As-prepared, uncalcined CaFe-LDHs proved to be efficient catalysts in the production of epoxides from an α,β -unsaturated oxo compound. Optimum conditions were determined and high activity was achieved. The pristine, uncalcined LDHs provided with 100% epoxide selectivity. Shape selectivity could not be exploited, since the reactant could enter the interlayer region, as the enhanced activity after delaminating the LDH attested.

The calcined forms of hydrotalcites were active in the transformations of glycerol. During these reactions large conversion and selectivity towards useful products (e.g., hydroxyacetone, acrolein, etc.) could be achieved, and a novel regeneration protocol was elaborated. Since the hydrotalcite structure was reconstructed during the dehydration reaction, simple heat-treatment provided with the regenerated catalyst.

Pristine, uncalcined LDHs could serve as nanoreactors in photoinitiated [2+2] cyclisations of various cinnamate derivatives. Various derivatives of the cinnamate ion could be incorporated into the interlayer space of CaFe-LDH. In many instances, the anions were in close enough proximity that this topotactic reaction could take place. Since the positions of the anions were fixed in the LDH, i.e. the rings were preformed, the cyclisation reactions were 100% selective.

Exploiting the intercalation ability of the LDHs, various organic-inorganic nanohybrids were prepared, where the organic anions possessed secondary nitrogen. The presence of this moiety makes them potential organocatalysts, however, without the LDH they work in the same phase as the reactants and the products, and they are sacrificed during the reaction. Intercalation made these materials potential heterogeneous catalysts with the advantage of easy recycling. It was demonstrated that two of them were active in the cross-aldol dimerisation-condensation reactions, indeed. Appreciable enantioselectivity was observed in the dimerisation when L-prolinate was the intercalated anion.

17 β -Pirazolil- és -pirazolinil-szteroidok szintézise

IVÁNYI Zoltán, GÖRBE Tamás, SZABÓ Nikolett, KISS Anita, WÖLFLING János és
SCHNEIDER Gyula*

Szegedi Tudományegyetem, Szerves Kémiai Tanszék, Dóm tér 8., 6720 Szeged, Magyarország

1. Bevezetés

A 17 β -helyzetű, *exo*-heterociklusos szteroidok fogalma sokáig a természetes eredetű, kardiotóniás hatású, öttagú butenolid gyűrűt tartalmazó digitoxigeninre, illetve a hattagú pentadienolid szerkezetű bufalinra szorítkozott. A vegyületeknek a gyógyászatban történő felhasználását korlátozza az a tény, hogy a terápiás és a toxikus érték között kicsi a különbség, amely a túlادagolás veszélyét jelenti. Az első módosítások a laktongyűrű kapcsolódási helyének megváltoztatására irányultak, de ezek a származékok sem bizonyultak jobbnak a természetes anyagoknál. További átalakítást jelentett a laktongyűrű oxigénjének heteroatommal való cseréje. Így a természetes kardenolidoknak aminolízissel történő átalakítása N-tartalmú laktámokhoz vezetett, amelyek kardenamid megjelölést kaptak. Ezek kardiotóniás hatása kedvezőbb volt, ugyanakkor kitűnt, hogy a 3 β -hidroxil funkciót hordozó származékok a 17 α -hidroxiláz/C_{17,20}-liáz enzim hatásának visszaszorításában is szerepet játszanak. A Δ^4 -3-ketoszteroid elemet tartalmazók az 5 α -reduktáz gátlásával tűnnek ki. Ezek az enzimek csökkentik a C₁₇-hidroxiszteroidok képződését, végső soron a dihidrotesztoszteron keletkezését, és ezzel visszaszorítják az androgénfüggő betegségek, így a *benignus prostatic hyperplasia* és a *prostatic carcinoma* kialakulását.¹

A C₁₇-es helyzetű *exo*-heterociklusokkal végzett vizsgálatok bizonyították, hogy a heteroatom nemkötő elektronpárjával koordinálódni képes az enzim aktív centrumában lévő vasatomhoz, és ezzel fejt ki a hatását². Miután az elektrondonor atomot (O, N, S) tartalmazó heterociklus kulcsfontosságú feltétele az enzimhatásnak, számos közlemény számol be a C₁₇-*exo*-heterociklusok szintéziséről és a kapott vegyületek biológiai vizsgálatáról.³⁻⁵

A Szegedi Tudományegyetem Szerves Kémiai Tanszékének Szteroidkémiai Kutatócsoportjában korábban 17 β -tetrahydrooxazinil-, -dihydrooxazinil-, oxazolidonil-, illetve oxazolinil-szteroidokat állítottunk elő.⁶⁻⁹ Az így készült vegyületek figyelemreméltó enzimgátló aktivitást mutattak. A kutatási program folytatásaként a két N-atomot tartalmazó 17 β -pirazolil- és -pirazolinil-szteroidok előállítását és vizsgálatát tűztük ki célul.

2. 17 β -Pirazolil-szteroidok

A szubsztituált pirazolok előállításának széles körben alkalmazott módja az 1,3-dikarbonil funkciót tartalmazó vegyületek és a dinukleofil jellegű hidrazin származékok reakciója. Megfelelően szubsztituált kiindulási anyagok esetén ebben az átalakulásban elméletileg két regioizomer keletkezésére van lehetőség. A reakciót

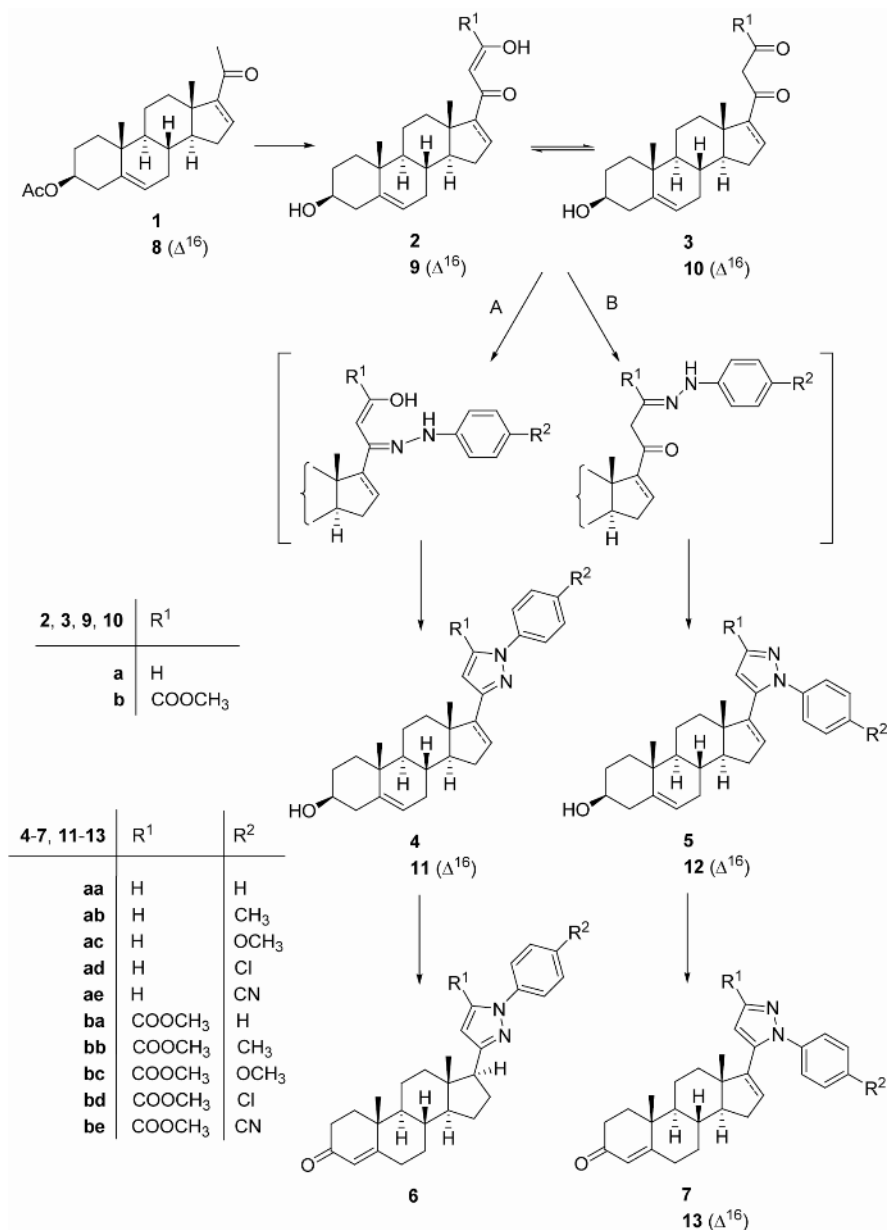
Doorenbos és Milevich a 17 β -pirazolil-szteroidok szintézisére alkalmazta.¹⁰ Munkájuk során a 3 β -hidroxil-21-hidroximetilidénpregn-5-én-20-on (2a) reagáltatták hidrazinnal és annak szubsztituált származékaival. Amíg a metilhidrazinnal végzett átalakításaiknál az elméletileg várható két regioizomer képződött, addig a fenilhidrazinnal alkalmazásakor a 17 β -(1-fenil-5-pirazolil)androszt-5-én-3 β -ol (5aa) volt az egyetlen izolálható termék. Az *exo*-heterociklusos szteroidok előállítására vonatkozó korábbi vizsgálataink azt mutatták, hogy a fenilcsoport, illetve a *p*-szubsztituált fenilcsoport számos esetben beleszól a gyűrűzárási folyamatokba. Ezzel egyidejűleg a biológiai hatásban is szubsztituensfüggés mutatkozik.^{8,9} Ezen korábbi tapasztalatok alapján azt kívántuk megvizsgálni, hogy a fenilhidrazinnal és szubsztituált származékaival végzett gyűrűzárási reakciók valamelyikében az 5'-pirazolil-androsztének (5aa-ae) mellett megjelennek-e a 3'-pirazolil izomerek (4aa-ae) (1. ábra).

Kísérleteink során a 3 β -acetoxipregn-5-én-20-on (1) metilketon oldalláncának etil-formiáttal, nátrium-metilát jelenlétében végzett Claisen kondenzációjával jutottunk a 3 β -hidroxil-21-hidroximetilidénpregn-5-én-20-onhoz (2a). A 2a szüntön ekvivalens az enol-oxo tautóméria folytán mind a 21-formil-20-on (3a), mind a 21-hidroximetilidén-20-on formában (2a) jelen lehet. A deuterokloroformban mért ¹H-NMR spektrum a 2a forma túlsúlyát igazolja az egyensúlyi elegyben, míg savas közegben a dikarbonil forma (3a) is jelentős mennyiségben kimutatható.¹⁰ A 17 β -(1-fenil-5-pirazolil)androszt-5-én-3 β -ol (5aa) előállítására a 2a kiindulási anyag ecetsavas oldatát 1,1 ekvivalens fenilhidrazinnal, szobahőmérsékleten, 24 órán át reagáltattuk. Azt találtuk, hogy ellentétben az irodalmi megfigyelésekkel¹⁰, az alkalmazott kísérleti körülmények között két termék képződött. Bár ezek R_f értékeikevessé különböztek, kromatográfiásan elválaszthatók voltak. A poláris termék az NMR vizsgálatok alapján a 17 β -(1-fenil-5-pirazolil)androszt-5-én-3 β -olnak (5aa) bizonyult, fizikai állandói az irodalomban leírtakkal megegyeztek.

A kevessé poláris anyagot az NMR spektrumai alapján a 17 β -(1-fenil-3-pirazolil)androszt-5-én-3 β -olként (4aa) azonosítottuk.¹¹

A fenilhidrazin *p*-szubsztituált származékaival végzett gyűrűzárások sajátos eredményt mutattak. Azt találtuk, hogy az elektront vonzó szubsztituensek közül a *p*-Cl (-I_s; +K) és a *p*-CN (-I_s; -K) a keletkezett regioizomerek közül a polárisabb izomerek (5ad, 5ae) képződését segítették. Az elektront küldő szubsztituensek közül a *p*-OCH₃ (-I_s; +K) és a *p*-CH₃ (+I_s; +K(H)) a kevessé poláris izomerek (4ab, 4ac) mennyiségét növelte. A *p*-helyzetű szubsztituens hatását a ható reagens erősségének megváltozásával értelmezhetjük.

* Főszervező. Tel.: +36 62 544276; e-mail: schneider@chem.u-szeged.hu



1. Ábra.

Az elektront vonzó szubsztituens gyengíti a terminális aminocsoport bázicitását, így az elsődleges reakció a láncvégi formilcsoporttal következik be, amelyet a gyűrűvé zárás követ, és az 1,5-diszubsztituált terméket kapjuk (1. ábra, **B** út). Az elektront küldő szubsztituensek alkalmazása esetén a nitrogénatomok nukleofilítása megnő, és így az aminocsoportnak lehetősége van a kisebb reaktivitású, láncközi C-20-as karbonillal reagálni, majd a gyűrűzárást követően számottevő mennyiségű 1,3-diszubsztituált termékre számíthatunk (1. ábra, **A** út).

A D-gyűrűben telített fenilpirazolil származékok (**4ae** és **5ae**) esetében megkíséreltük a reakciókörülmények változtatásával a regioizomerek arányát befolyásolni. Oldószerként diklórmetánt használva, a bórtrifluorid-diéterát katalízissel végzett átalakítások esetében a termékarány az irodalomban eddig ismeretlen 1,3-diszubsztituált származékok (**4ae**) felé tolódott el¹² (Táblázat).

Táblázat. Regioizomerek arányának szubsztituens- és oldószerfüggése.

Szubsztituens	Izomerek aránya (4:5)	
	CH ₃ COOH/CH ₃ COOK	CH ₂ Cl ₂ /BF ₃ ·OEt ₂
H	1:5	5:1
CH ₃	1:2	27:1
OCH ₃	2:7	12:1
Cl	1:7	7:2
CN	1:7	1:3

A kidolgozott szintézismódszert kiterjesztettük a pirazolil-gyűrűn metoxikarbonil-csoporttal szubsztituált *exo*-heterociklusos szteroidok előállítására. Az ehhez szükséges 3β-hidroxi-21-metoxalilpregn-5-én-20-on (**3b**) szinten ekvivalenst ugyancsak a 3β-acetoxipregn-5-én-20-onból (**1**) kiindulva, dimetil-oxaláttal végzett *Claisen* kondenzációval

állítottuk elő. A fenilhidrazinnal, valamint annak *p*-helyzetben szubsztituált származékaival ecetsavban történő gyűrűzárási reakció itt is a regioizomerek keverékét adja, melyek aránya azonban nagymértékben az 1,5-diszubsztituált pirazolil származékok (**5ba-be**) felé tolódik el. A metoxikarbonil-csoport hidrolízisével a vízőldékonyságot jelentősen megnövelő karboxilcsoport alakítható ki, amely az élő szervezetben történő felszívódást segíti.

Az irodalmi adatok szerint a D gyűrűben Δ^{16} kettőskötést is tartalmazó androszta-5,16-dién vázas *exo*-heterociklusos szteroidok enzimgátló aktivitása a megfelelő androszt-5-én származékokénál lényegesen nagyobb lehet.⁴ Ez a megfigyelés vezetett arra, hogy a jó kitermelést nyújtó szintézismódszert a 3 β -acetoxipregna-5,16-dién-21-on (**8**) esetében is alkalmazzuk. Dimetil-oxaláttal, nátrium-metilát jelenlétében, toluolban végrehajtott *Claisen* kondenzáció során a Δ^{16} kettőskötésen lejátszódó *Michael* addíciót is tapasztaltunk, amely a nemkívánt 16 β -metoxipregna-5-én-20-on megjelenéséhez vezetett. A katalizátort kálium-*terc*-butiláttal helyettesítve már jó termeléssel tudtuk a 3 β -hidroxi-21-metoxalilpregna-5,16-dién-20-on (**10b**) kiindulási vegyületet előállítani. Megállapítottuk, hogy a **10b** vegyületre kiterjesztett átalakítások is regioizomerek keverékéhez, így a 17 β -(1-fenil-3-metoxikarbonil-5-pirazolil)androszt-5,16-dién (**12ba**) és a 17 β -(1-fenil-5-metoxikarbonil-3-pirazolil)androszta-5,16-diénhez (**11ba**) vezet. Ugyanakkor megállapítható volt, hogy az 5'-pirazolil vegyület (**12ba**) jóval nagyobb mennyiségben képződött, mint a 3'-pirazolil regioizomer (**11ba**). A jelenség lehetséges magyarázata, hogy mind a **3b**, mind a **10b** kiindulási anyagok metoxikarbonil-csoportjának elektront vonzó tulajdonsága megnöveli a láncvégi karbonilcsoport nukleofililitását. Ennek az a következménye, hogy a fenilhidrazin NH₂-csoportjának a gyűrűzárási irányát meghatározó támadása ezen a szénatomon könnyebben megy végbe, így az 5'-pirazolil regioizomer kerül túlsúlyba a termékelegyenben.¹³

Amíg a 3 β -hidroxi-21-metoxalilpregna-5,15-dién-20-on (**10b**) előállítása a kálium-*terc*-butiláttal katalizált *Claisen* kondenzációval kényelmesen megoldható volt, a módszer a 21-hidroximetilidénpregna-5,16-dién-3 β -ol-20-on (**9a**) előállításánál nem járt eredménnyel. Az irodalomban több próbálkozást találunk a vegyület szintézisére, amelyek azonban csak rossz termeléssel, nehezen tisztítható formában voltak kivitelezhetők.^{4,10} Munkánk során sikerült az érzékeny kiindulási vegyületet (**9a**) piridinben, alacsony hőmérsékleten, közel 95 %-os termeléssel előállítani. A kétszeres telítetlenséget mutató kiindulási vegyület (**9a**) fenilhidrazinnal végzett átalakítása rossz hozammal játszódott le. A regioizomerek közül megkaptuk a 17 β -(1-fenil-5-pirazolil)androszta-5,16-dién-3 β -olt (**12aa**), míg a másik izomer (**11aa**) csak nyomokban volt kimutatható. Ugyanakkor a reakcióelegyenben megjelent egy erősen apoláris vegyület, amely az NMR mérések alapján a 17 β -(1-fenil-5-pirazolil)androszta-5,16-dién-3 β -formiátnak bizonyult. A formiátképződést úgy értelmeztük, hogy az érzékeny kiindulási anyagunk (**9a**) ecetsavas közegben *retro-Claisen* kondenzációval részben a kiindulási vegyületté (**8**), részben hangyasav-ecetsav vegyes anhidriddé alakult. Ez utóbbi a keletkezett termék (**12aa**) 3 β -OH csoportjával reagálva a megfelelő formiáthoz vezetett.

A **4aa-ae**, **5aa-ae**, **5ba-be**, **12aa-ae** és a **12ba-be** vegyületek *Oppenauer* oxidációja kielégítő hozammal szolgáltatotta a megfelelő Δ^4 -ketoszteroidokat (**6aa-ae**, **7aa-ae**, **7ba-be**, **13aa-ae** és **13ba-be**).

Az általunk előállított *exo*-heterociklusos szteroidok szerkezetét ¹H-, és ¹³C-NMR spektrumaikkal jellemeztük. Így a **4aa-ae** és az **5aa-ae** ¹H-NMR spektrumában a 3 ppm eltolódás alatti alifás tartományban az androsztánváz jelei közül az anguláris metilcsoportnak megfelelő 3-as intenzitású szingulettel emelkednek ki. Mindkét spektrumon megfigyelhetjük a 3-as helyzetű hidrogénnek megfelelő multiplettet, valamint a kettős kötés 6-os szénatomjához kapcsolódó hidrogén jelét. A gyűrűzárási reakciót a spektrum aromás tartományában megjelenő, összesen hét proton bizonyítja, amelyek közül kettő a heteroaromás gyűrűhöz, öt pedig a fenilcsoporthoz rendelhető. Ezek a jelek mindkét regioizomer esetén megfigyelhetők, sorrendjük azonban különböző a két spektrum esetén, amely a fenilcsoportnak a molekulán belül elfoglalt különböző helyzetével értelmezhető. A 3'-pirazolil származékoknál a heteroaromás gyűrű 4'-H jele $\delta = 6,23-6,34$ ppm-nél, míg az 5'-H alacsonyabb térerőnél, $\delta = 7,72-7,90$ ppm-nél jelentkezik. Az 5'-pirazolil származékoknál a 4'-H jele 6,24-6,35 ppm, míg a 3'-H jele 7,57-7,67 között jelentkezik. A megfelelő, D-gyűrűben telítetlen származékok esetén megfigyelhető a 17-es hidrogén jelének az eltűnése. Helyette új jel figyelhető meg, amely a 16-os helyzetű kettőskötés jelenlétét bizonyítja. A metoxikarbonil-pirazolilandroszt-5-én (**4ba**, **5ba** és a metoxikarbonil-pirazolilandroszta-5,16-dién (**11ba** és **12ba**) esetén az észtercsoportnak megfelelő szingulett 3,77, illetve a 3,91 ppm-nél könnyen azonosítható.

3. 17 β -Pirazolinil szteroidok

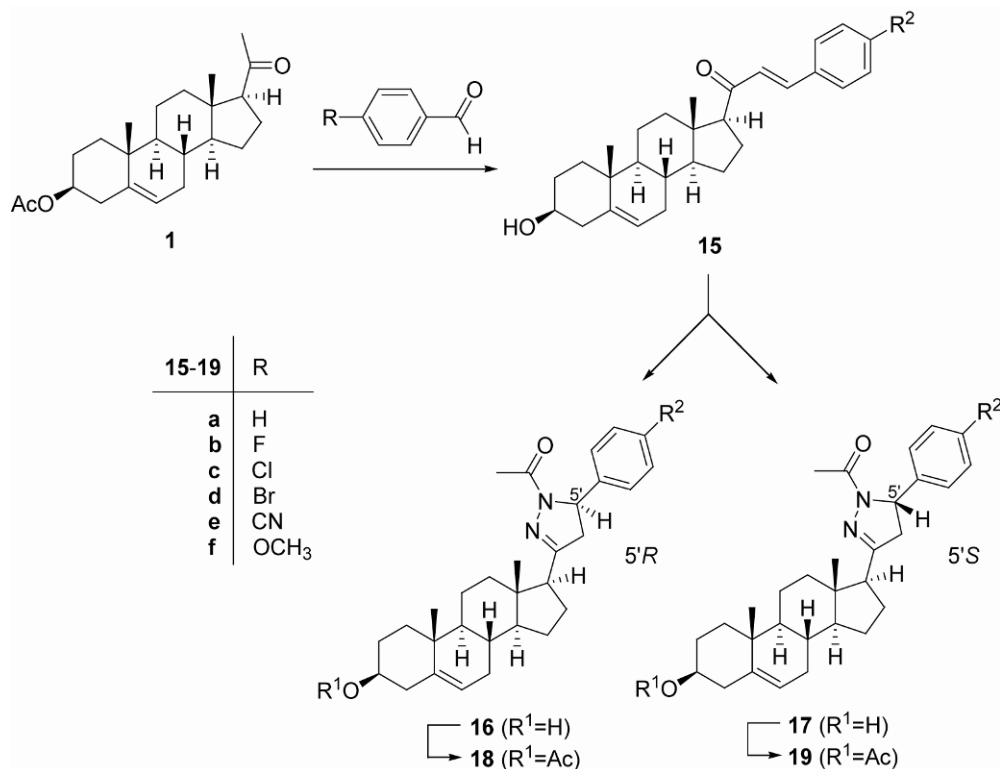
A 17 β -pirazolil-szteroid származékok előállítását követően azok részlegesen telített pirazolin gyűrűt tartalmazó *exo*-heterociklusos szintézisét tűztük ki célul. A részlegesen telített gyűrűrendszer ugyancsak tartalmaz fenil szubsztituens szerkezeti elemet, azzal a különbséggel, hogy a 17 β -pirazolil szteroidoknál *N*-fenil, míg a pirazolinil szteroidoknál *C*-fenil származékok szintézise valósul meg.

A pirazolil gyűrűrendszer kialakítására számos lehetőség kínálkozik.^{14,15} Az androsztánvázis pirazolil-szteroidok szintézisét *Banday* és munkatársai az E-21-benzilidén-3 β -hidroxipregna-5-én-20-onból (**15a**) és a fenilcsoporton szubsztituált származékaiból kiindulva valósították meg.¹⁶ Az ecetsavban, hidrazin-hidráttal jelenlétében végzett átalakítással jutottak a kívánt 17 β -pirazolil-szteroidhoz. A pirazolil gyűrűrendszer kialakulásakor egy új kiralitáscentrum jön létre, és így az 5'*R* és 5'*S* epimerek képződésére van lehetőség. A vonatkozó irodalom erről nem tesz említést.

Tekintettel arra, hogy az általunk szintetizált *exo*-heterociklusos szteroidok antiproliferációs vizsgálata tiszta diasztereomerek felhasználásával történik, megvizsgáltuk a fenti reakció sztereokémiai irányítottaságát, az esetleg képződő izomerek jelenlétét.¹⁷ A 3 β -hidroxi-benzilidénpregna-5-én-20-on (**15a-f**) ecetsavas közegben, hidrazin-hidráttal jelenlétében 2 óra forralás után teljes átalakulást mutatott. A *terc*-butil-metil-éterrel végzett vékonyréteg-kromatográfiás

vizsgálat két termék (**16a–f** és **17a–f**) együttes jelenlétét mutatta. A kritikus izomerpár kromatográfiás elválasztása ebben a fázisban nem volt megoldható. A nyerstermék piridin/ecetsav-anhidrid eleggyel történő acetilezése a megfelelő 3 β -acetátokat (**18a–f** és **19a–f**) szolgáltatja. Ezek kromatográfiás elválasztása *tert*-butil-metil-éter/hexán eleggyel megvalósítható volt. Az elválasztott acetátokat *Zemplén* szerinti dezacetilezéssel visszaalakítottuk a megfelelő 3 β -hidroxi származékokká (**16a–f** és **17a–f**). Az elválasztott vegyületek szerkezetét NMR spektroszkópiával bizonyítottuk. A mérések alapján a nagyobb mennyiségben keletkezett poláris termék az (5'*S*)-17 β -(1-acetil-5-fenil-

3-pirazolinil)androszt-5-én-3 β -ol (**17a**) és szubsztituált származékai (**17b–f**), míg a kisebb mennyiségű, kevésbé poláris termék ezek 5'*R* epimerjei (**16a–f**). Az elválasztás előtti termékelegyből végzett ¹H-NMR spektroszkópiai mérések alapján megállapítható volt, hogy epimerek aránya 5'*R*/5'*S* = 1:2 értéknek adódott, függetlenül attól, hogy a különbözőképpen szubsztituált anyagok közül melyikkel végezzük a gyűrűzárási reakciót. A nyers termékelegy vizsgálata azt is igazolta, hogy a pirazolingyűrű NH-csoportjának acetileződése még az ecetsavas reakcióelegyben végbement. Ez tehát nem az elválasztás érdekében, ecetsav-anhidriddel végzett acetilezés eredménye (2. ábra).



2. Ábra.

A **16** és **17** epimerek képződése a telítetlen ketonok és a hidrazin származékok reakciójának általánosan elfogadott mechanizmusa szerint értelmezhető.^{18,19} A reakció első lépése a hidrazin nitrogénjének támadása a karbonilcsoportra. Az általunk vizsgált molekula esetén a C-20-as karbonilcsoporton végbemenő nukleofil támadás iránya függhet a C-18-as anguláris metilcsoport szterikus hatásától. Ennek következtében a kialakuló új kiralitáscentrum konfigurációjára az említett β térállású metilcsoport aszimmetrikus indukciót gyakorol (3. ábra).

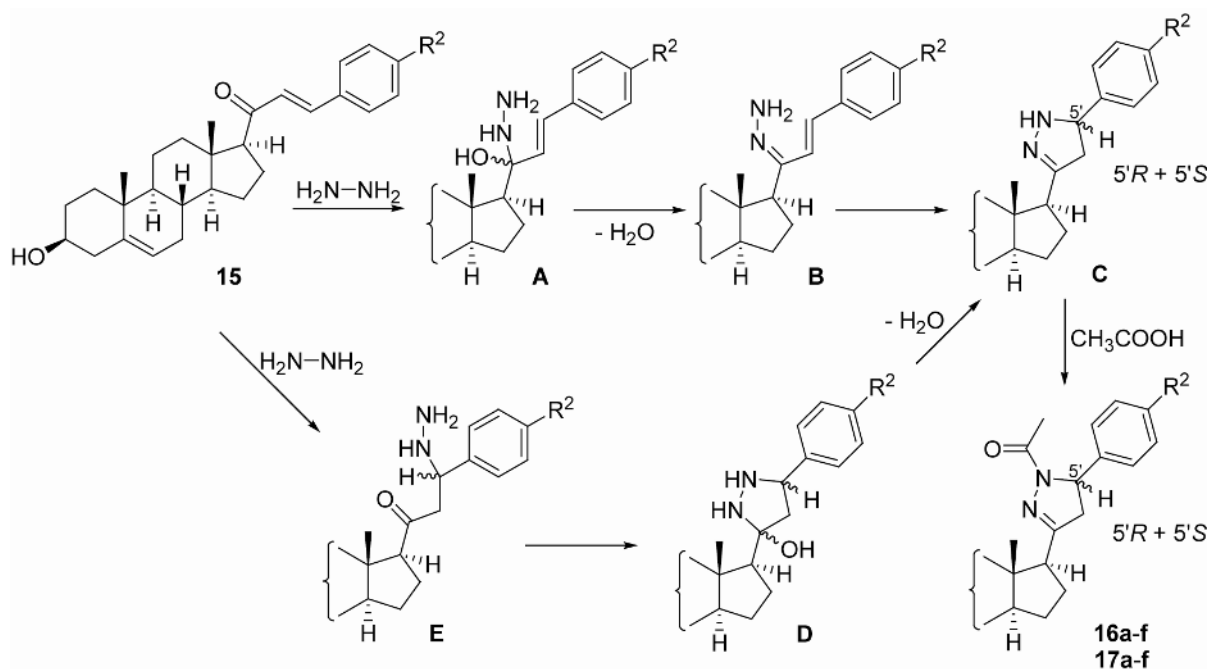
Amennyiben a reakciósor az **A–B–C** utat követi, úgy a vízkilépéssel járó **B** hidrazon képződésekor az említett kiralitáscentrumot elveszítjük, így az nem gyakorol hatást a gyűrűzárási kialakuló aszimmetriacentrum konfigurációjára. Miután az epimerek arányában minden esetben eltérést tapasztaltunk, a reakció lefutását a hidroxipirazolidin átmeneti terméken (**D**) keresztül haladó **A–D–C** utat valószínűsítjük. Ennek során a C-20-as kiralitáscentrum a gyűrűzárási során megmarad, így a kettőskötés egyik oldala a *Michael* addíció szempontjából kedvezményezetté válik. Az

általunk vizsgált rendszerben a hidrazin nitrogénje nagyobb valószínűséggel támad a kedvezményezett α oldalról, így a gyűrűzárási során az 5'*S* termék képződik nagyobb arányban.

A reakció lefutásának egy másik lehetőségeként a *Michael* addíció megelőzné a karbonil szénatomon történő hidrazon képződést. Ez alapján az **E–D–C** reakcióút is vezethet a **16a–f** és **16a–f** termékek képződéséhez. Az elemi lépések ilyen jellegű változása a szekunder aminokkal katalizált folyamatoknál figyelhető meg.¹⁵

Az elválasztott izomerek NMR spektrumainak összehasonlításakor kitűnt, hogy a 4-CH₂-csoport protonjai az 5'*R* és az 5'*S* izomer sorozatokban jellegzetes különbségeket mutatnak. A jelenség kétdimenziós NMR spektroszkópiai vizsgálatával (H,H-COSY, HSQC, NOESY) sikerült az izomerek szerkezetigazolását megvalósítanunk.

A szintetizált vegyületek mind antiproliferációs, mind pedig 5 α -reduktáz enzimgátlási vizsgálatra kerültek.²⁰



3. Ábra.

4. Összefoglalás

Kutatómunkánk során 17β-pirazolil-, és -pirazolinil-szteroidok szintézisét valósítottuk meg. A 3β-hidroxipregn-5-én-20-on lánchosszabbításával nyert 3β-hidroxipregn-5-én-20-on 21-hidroximetilidénpregn-5-én-20-on fenilhidrazinnal és annak p-szubsztituált származékaival gyűrűzárási reakciót végeztünk. A 17β-pirazolil származékok képződésekor az irodalmi adatokkal ellentétben két regioizomer képződését tapasztaltuk, amelyek kritikus izomer párt képeztek. Az izomerek 3β-acetát formájukban kromatográfiásan minden esetben elválaszthatók voltak. A regioizomerek képződésénél a fenilhidrazin szubsztituenseitől függő nagyfokú hatás érvényesült.

A 17β-pirazolinil-szteroidok előállítását a 3β-hidroxipregn-5-én-20-on átalakításával kapott 21-benzilidénpregn-5-én-20-on, valamint ennek p-helyzetben szubsztituált származékainak hidrazin-hidráttal történő reakciójával végeztük. A 17β-pirazolinil-szteroidok képződésekor az irodalmi adatokkal ellentétben 5'R és 5'S epimerek 1:2 arányú keveréke keletkezett, melyek kromatográfiásan elválaszthatók voltak.

Mind az elválasztott regioizomerek, mind az izolált epimerek antiproliferációs, valamint 5α-reduktáz enzimgátlási vizsgálatra kerültek.

Köszönetnyilvánítás

A munka az Országos Tudományos Kutatási Alap (OTKA K 101659), és az Európai Unió (TÁMOP-4.2.2.A-11/1-KONV-2012-0047) támogatásával készült.

Hivatkozások

1. Schneider, G.; Wölfling, J. *Curr. Org. Chem.* **2004**, *8*, 1381–1403.

2. Njar, V. C. O.; Brodie, A. M. H. *Curr. Pharm. Des.* **1999**, *5*, 163–180.
3. Ling, Y. Z.; Li, J. S.; Liu, Y.; Kato, K.; Klus, G. T.; Brodie, A. M. H. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3297–3304.
4. Njar, V. C. O.; Kato, K.; Nnane, I. P.; Grogoryev, D. N.; Long, B. J.; Brodie, A. M. H. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 902–912.
5. Zhu, N.; Ling, Y.; Lei, X.; Handratta, V.; Brodie, A. M. H. *Steroids* **2003**, *68*, 603–611.
6. Wölfling, J.; Hackler, L.; Mernyák, E.; Schneider, G.; Tóth, I.; Szécsi, M.; Julesz, J.; Sohár, P.; Csámpai, A. *Steroids* **2004**, *69*, 451–460.
7. Wölfling, J.; Oravec, E. A.; Ondré, D.; Mernyák, E.; Schneider, G.; Tóth, I.; Szécsi, M.; Julesz, J. *Steroids* **2006**, *73*, 809–816.
8. Ondré, D.; Wölfling, J.; Iványi, Z.; Schneider, G.; Tóth, I.; Szécsi, M.; Julesz, J. *Steroids* **2008**, *73*, 1375–1384.
9. Ondré, D.; Wölfling, J.; Tóth, I.; Szécsi, M.; Julesz, J.; Schneider, G. *Steroids* **2009**, *74*, 1025–1032.
10. Doorenbos, N. J.; Milevich, I. J. *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 3193–3199.
11. Iványi, Z.; Wölfling, J.; Görbe, T.; Szécsi, M.; Wittmann, T.; Schneider, G. *Steroids* **2010**, *75*, 450–456.
12. Iványi, Z. *Magyar Kémikusok Lapja* **2010**, *LXV*, 391–393.
13. Iványi, Z.; Szabó, N.; Wölfling, J.; Szécsi, M.; Julesz, J.; Schneider, G. *Steroids* **2012**, *77*, 1152–1159.
14. Pelc, B.; Hodkova, J. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1969**, *34*, 442–450.
15. Lévai, A. *J. Heterocyclic Chem.* **2002**, *39*, 1–13.
16. Bandy, A. H.; Mir, B. P.; Lone, I. H.; Suri, K. A.; Kumar, H. M. S. *Steroids* **2010**, *75*, 805–809.
17. Iványi, Z.; Szabó, N.; Huber, J.; Wölfling, J.; Zupkó, I.; Szécsi, M.; Wittmann, T.; Schneider, G. *Steroids* **2012**, *77*, 566–574.
18. Amr, E.; Abdel-Latif, N. A.; Abdalla, M. M. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 373–384.
19. Catsoulacos, P.; Stassinopoulou, C. I. *Heterocyclic Chem.* **1978**, *15*, 313–314.
20. Frank, É.; Schneider, G. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2013**, *137*, 301–315.

Synthesis of 17 β -pyrazolyl and -pyrazolinyl steroids

1. 17 β -Pyrazolyl steroids

Until recently, an unsaturated lactone ring at position 17 β of steroidal nucleus was considered an essential feature for digitalis-like cardiotonic activity, the ring being a butenolide as in digitoxigenine or a pentadienolide as in bufalin. Various studies have now shown that these natural ring systems can be replaced by other groups without loss of the activity. A cardenolide analog in which the lactone ring is replaced by a nitrogen-containing unsaturated heterocycle was to be almost as active as the parent compound. Pharmacological examinations have shown that the cardiotonic activity of the 17 β -*exo*-heterocyclic steroids is weaker than that of the parent compound, although the ratio of the therapeutic effect to the toxic effect is favorable. Beside cardiotonic activity, a large number of *exo*-heterocyclic steroids display a potential as inhibitors of human cytochrome P450_{17 α} , the enzyme responsible for the conversion of C₂₁ steroids to the related C₁₉ steroids (androgens).

The *Claisen*-condensation of pregnenolone acetate (**1a**) with ethyl formate in the presence of sodium methoxide lead to a 1,3-dicarbonyl compound, the 3 β -hydroxy-21-hydroxymethylidene-pregn-5-en-20-one (**2a**). The reaction of this compound with phenylhydrazine or its substituted derivatives – despite of the earlier literature observations – led to regioisomeric *N*-phenyl pyrazoles (**4aa–ae** and **5aa–ae**). After chromatographic separation of the regioisomers, we pointed out that their ratio depended on the electronic character of the *p*-substituent of the phenylhydrazine. Substituents with an electron-withdrawing character (Cl and CN) afforded predominantly 5'-pyrazolyl derivatives (**5ad–ae**). Electron-donating substituents (CH₃ and OCH₃) gave mainly 3'-pyrazolyl compounds (**4ab–4ac**). An electron-withdrawing substituent in the *para* position in phenylhydrazine decreases the electron density and the nucleophilicity at the N atom. The favored step in this case is the reaction of phenylhydrazine with the more reactive free C-21 aldehyde group of **3a** in the equilibrium mixture. The second step is the ring-closure process, resulting in 5'-pyrazolyl derivatives. Substituents with an electron-donating character increase the electron density and nucleophilicity of the substituted phenylhydrazine, which react with both the C-20 keto and C-21 formyl groups in **2a** and **3a**, resulting predominantly in **4aa–ae** derivatives. We performed experiments to influence the isomeric ratios, and it was found, that when the reaction is carried out in dichloromethane with *Lewis* acid catalyst, the ratio of the 3'-pyrazolyl isomer (**4aa–ae**) significantly increased.

The method was then applied for the preparation of Δ^{16} - (**11aa–ae** and **12aa–ae**), and methoxycarbonylpyrazolyl derivatives (**4ba–be** and **5ba–be**), and for a series in which the two structural elements are combined (**12ba–be**). The synthesis of 3 β -hydroxy-21-hydroxymethylidenepregna-5,16-dien-20-one (**9a**) was carried out in pyridine with ethyl formate, in the presence of sodium methoxide at low temperature. The synthesis of the synthon equivalent with methoxycarbonyl group (**9b**) was performed by a *Claisen*-condensation with dimethyl oxalate. In the product mixtures from ring closing reactions of these synthon equivalents the 5'-pyrazolyl regioisomers predominated, the corresponding 3'-pyrazolyl ones formed in lesser or undetectable amounts.

Oppenauer oxidation of the 3 β -hydroxy compounds **4aa–ae**, **5aa–ae**, **5ba–be**, **12aa–ae** and **12ba–be** lead to the corresponding Δ^4 -3-ketosteroids **6aa–ae**, **7aa–ae**, **7ba–be**, **13aa–ae** and **13ba–be** without any degradation of the *exo*-heterocyclic system (Fig. 1).

The structures of the newly synthesized steroidal pyrazoles were determined by NMR spectroscopy. In the ¹H NMR spectra, the signals of the phenyl (or *p*-substituted phenyl) group appear in the aromatic region. In the case of the 3'-pyrazolyl steroids, 4'-H on the heteroaromatic ring resonates at δ = 6.23–6.34 ppm, while the

signal of 5'-H can be found at lower fields: δ = 7.72–7.90 ppm. 4'-H of the 5-pyrazolyl derivatives can be observed at 6.24–6.35 ppm, and 3'-H at 7.57–7.67 ppm. The ¹³C NMR spectra of the synthesized steroids also contain the signals of the heteroaromatic ring, one for C-4' at ~127 ppm, and the C-3' signal at ~139 ppm. In 3'-pyrazolyl-, and 5'-pyrazolyl steroids, the multiplet at ~3.50 ppm can be assigned to 3-H. In the *Oppenauer*-products 4- (sp²) H is to be found at δ = 5.69–5.74 ppm (singlet) in the ¹H NMR spectra, and the 3-H signal disappears, while the C-3-s resonate at ~199.5 ppm (¹³C). In the spectra of the methoxycarbonyl pyrazoles a singlet is at 3.77 ppm in the ¹H NMR spectra of the 3'-pyrazolyl, and at 3.91 ppm in that of the 5'-pyrazolyl series.

2. 17 β -Pyrazolinyl steroids

The reactions between α,β -unsaturated ketones and hydrazines are widely used for the preparation of substituted 2-pyrazolines. To obtain pyrazolinylandrosterone derivatives and to study the stereochemistry of their formation, we reacted *E*-21-benzylidene-3 β -hydroxypregn-5-en-20-one (**15a–f**) with hydrazine hydrate in acetic acid. The consumption of the starting material was monitored by TLC. Regardless of the starting material, the ring-closure reaction afforded (in contrast with the literature data) a mixture of two steroidal pyrazoline epimers. The spots were distinguishable only when methyl *tert*-butyl ether was used as eluent. The more polar of these two spots was more intense, and the ¹H NMR spectra of the crude mixtures revealed that the product ratio was 1:2. For easier separation, the product mixture was acetylated. For all of the substituted pyrazolines, the two products could be fully separated by column chromatography. After separation, 2D NMR spectra demonstrated that the minor products were the 5'*R* epimers (**18a–f**), while the major products were the 5'*S* epimers (**19a–f**) of the corresponding phenylpyrazolinylandrosterone derivatives. After separation of the acetylated pyrazoline products (**18a–f** and **19a–f**), they were hydrolyzed by the method of *Zemplén* to obtain the 3 β -hydroxy derivatives (**16a–f** and **17a–f**). Their NMR spectra were also taken, and it was proven that the pyrazoline ring with the *N*-acetyl group remained unchanged under the mild conditions of deacetylation (Fig. 2.).

For the formation of the epimers (**16a–f** and **17a–f**) three mechanistic pathways may be suggested. According to a widely accepted interpretation (**A–B–C**), the nucleophilic attack of the hydrazine nitrogen takes place on the carbonyl group of the enone, and intermediate **A** is formed containing a chiral carbon atom (C-20). In the case of the present molecules, the direction of the nucleophilic attack may be affected by the steric hindrance of the angular 18-CH₃, and one side of the carbonyl group therefore becomes more favorable. Then with the elimination of the one molecule of water, a hydrazone **B** is formed, with the loss of the C-20 asymmetric center. Intramolecular *Michael* addition of the NH₂ group of **B** to the double bond leads to pyrazoline **C**. This step is probably not affected by the steric effect of the angular 18-CH₃, as it is several bonds away from it, and this should therefore result in an approximately 1:1 ratio of the epimers. The acetylation of **C** by the solvent leads to the formation of the *N*-acetyl products **16a–f** and **17a–f**. Another possible mechanistic pathway (**A–D–C**) starts with the formation of **A**, but without the elimination of water a ring-closure step takes place next, furnishing a hydroxypyrazolidine intermediate **D**. As the asymmetric center at C-20 is still present in the ring closure step, its configuration determines the configuration of the new chiral carbon atom (C-5'). As the two epimers of intermediate **A** may not be present in 1:1 ratio because of the steric effects mentioned above, the 5'*S* and 5'*R* epimers of **C** (and therefore **16a–f** and **17a–f**) may not form in equal quantities, which is in agreement with our experimental findings. According to some statements in the literature, the *Michael* addition of the hydrazine derivative can be regarded as the first step, but this mechanism (**E–D–C**) needs special experimental evidence (Fig. 3).

Több diszulfidhíd kötést tartalmazó peptidek szintézise

VÁRADI Györgyi,^a RÁKOSI Kinga,^a KELE Zoltán,^a BATTA Gyula^b és TÓTH K. Gábor^{a*}

^aSzegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Vegytani Intézet, Dóm tér 8., 6720 Szeged, Magyarország

^bDebreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Szerves Kémiai Tanszék, Egyetem tér 1., 4010 Debrecen, Magyarország

1. Bevezetés

A cisztein az egyik legérdekesebb fehérjealkotó aminosav. Szulfhidril csoportja számos egyedi tulajdonsággal ruházta fel, így fontos szerepet játszik fémionok komplexálásában, biológiai redox rendszerek (pl. glutation), acil donor vegyületek (koenzim A) képzésében. A fentiek mellett a cisztein-cisztin rendszer a fehérje-konformáció stabilizálásában fontos szerepet játszó diszulfidhidak miatt is alapvető jelentőségű.

V. du Vigneaud 1955-ben Nobel díjjal jutalmazott munkássága is diszulfidhidas peptidek szintézise volt, amelyek azonban csak egyetlen diszulfidhidat tartalmaztak.¹ Még ez az egy is kétféleképpen alakulhat ki, intra- és intermolekuláris módon.

Annak ellenére, hogy az elmúlt évtizedekben számos előrelépés történt a peptidkémiaiában, a szabad tiolfunkciók kontrollált módon a megfelelő diszulfidhiddá történő alakítása továbbra is kihívás maradt.^{2,3} Ennek fő oka a többszörös regioszelektív diszulfidképzés nehézsége. Napjainkban már számos olyan fontos biológiailag aktív peptid ismert, amelyek több diszulfidhidat tartalmaznak (peptid toxinok, endotelinek, inzulinok, defenzinek, miniproteinek). E peptideknél nemcsak a regioszelektív szintézis, hanem a szerkezetigazolás is kihívásnak tekinthető. Célunk volt új szintézisek kidolgozása, több diszulfidhidat tartalmazó peptidek (farmakológiailag fontos peptid toxinok) racionális előállítás, és a kapott diszulfidhidak helyzetének igazolása.

2. Eredmények

A többszörös diszulfidhidat tartalmazó peptidek népes családjából kétféle vegyülettel foglalkoztunk: peptid toxinokkal és antifungális miniproteinekkal. Az előbbi képviselői például a skorpió toxinok, míg az utóbbiak közé tartoznak a gombák által termelt defenzinszerű kis fehérjék.

E peptidek szintézisére két fő megközelítés adódik:^{4,5,6}

1. Azonos védőcsoportok használata a szulfhidril csoportok védelmére, majd ezek után alkalmas körülmények keresése a természetesnek megfelelő diszulfidhíd mintázat elérésére.
2. Ortogonális védőcsoportok alkalmazása a cisztein oldalláncok védelmére, és a diszulfidhidak egymás utáni kiépítése.

2.1. A charybdotoxin és iberiotoxin racionális előállítása

A két skorpió toxin, amelynek szintézisével megpróbálkoztunk, a 37 aminosavból álló, 3 diszulfidhidat tartalmazó charybdotoxin és a vele 68%-os homológiát mutató iberiotoxin. Szekvenciáik az 1. ábrán láthatók. Mindkét polipeptid a Ca²⁺ aktivált K⁺ csatornát blokkolja, amely ioncsatorna fontos szerepet játszik a kardiovaszkuláris rendszer szabályozásában.

Biológiai vizsgálatok céljára kívántuk szintetizálni a két polipeptidet – ezt részben igen magas árak, részben pedig az indokolta, hogy a 90-es évek elején az iberiotoxin kémiai szintézise még nem volt ismert az irodalomban, és a charybdotoxin szintézisééről is viszonylag kevés adat állt rendelkezésre.

Charybdotoxin:

<EFTNVSCCTTSKECWSVCQRLHNTSRGKCMNKKCRQCS

Iberiotoxin:

<EFTNVSCCTTSKECWSVCQDLFGVDRGKCMGKKCRQCS

Anuroctoxin:

<EKECTGPQHCTNFCRKNKCTHGKCMNRKCKCFNCK

PAF:

AKYTGKCTKSKNECKYKNDAGKDTFICKPKFDNKKCTKDNKCTVDTYNNAVDGD

1. Ábra. A szintetizált peptidek szekvenciái (<E = Glp).

Mivel ortogonális védőcsoportok alkalmazása esetén komoly nehézségekbe ütközött a részlegesen védett, diszulfidhidat tartalmazó köztitermékek izolálása és szerkezetbizonyítása, valamint e módszer lényegesen drágább, ezt a megközelítést elvetettük.

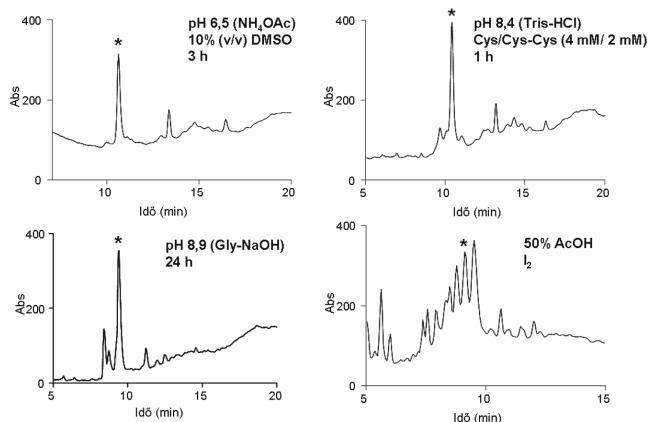
Az első módszer szerint, amelyet sikerrel alkalmaztunk, a peptideket Boc-Gln-PAM, ill. Boc-Ser(Bzl)-PAM polimeren építettük fel. A folyékony hidrogén-fluoridos védőcsoport eltávolítás után kapott nyers hexaszulfhidril peptideket 2M karbamid tartalmú, pH=8,7 glicin-NaCl pufferben szolubilizáltuk, majd levegő bekeverésével oxidáltuk. A reakcióelegyet szűrés után közvetlenül RP-HPLC oszlopra vittük fel. A tiszta peptidek szerkezetbizonyítását részben tömegspektrometriával, részben természetes standarddal való koelúcióval végeztük.⁷

2.2. Az anuroctoxin szintézise

Az anuroctoxint az *Anuroctonus phaiodactylus* nevű mexikói skorpió termeli. A peptid szekvenciáját az 1. ábra mutatja. A 35 aminosavból álló, 8 cisztein tartalmú polipeptidet Boc-Lys(2ClZ)-PAM polimeren szintetizáltuk,

* Tel.: 62/545-726; fax: 62/545-139; e-mail: toth.gabor@med.u-szeged.hu

standard Boc-kémiával. A ciszteinek szulfhidril csoportjait azonos védőcsoporttal, 4-metil-benzilrel (Meb) láttuk el. A lineáris peptid hasítása a hordozóról folyékony hidrogén-fluoriddal történt. A ciklizálásra több különböző módszert próbáltunk ki, az eredmény a 2. ábrán látható.



2. Ábra. Az anurotoxin oxidálása különböző körülmények között. (A *-gal jelölt csúcs felel meg a természetes diszulfidhíd mintázatú toxinnak.)

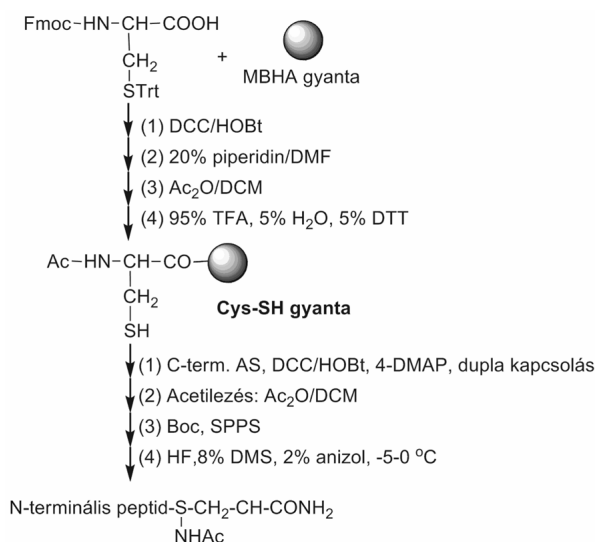
Megállapítható, hogy megfelelő körülmények kiválasztásával túlnyomó részben a természetes diszulfid-mintázat jön létre. Ezt részben tömegspektrometriával, részben biológiai mérésekkel igazoltuk. Savas körülmények között, jóddal oxidálva azonban jelentős mennyiségben képződött két, nem természetes diszulfid-mintázatot hordozó izomer is.⁸

2.3. A PAF antifungális miniprotein előállítása

A PAF (Penicillium antifungal protein) a defenzinszerű antifungális peptidek csoportjába tartozó, a *Penicillium chrysogenum* (*P. notatum*) fonalas gomba által termelt miniprotein.^{9,10} A PAF az egyik legtöbbet tanulmányozott gombaellenes peptid, ami azzal magyarázható, hogy emlősökre bizonyítottan veszélytelen.¹¹ 55 aminosavból áll és szerkezetét 3 diszulfidhíd stabilizálja (1. ábra).¹⁰ Vizsgálataink megkezdése előtt – NMR alapján – két lehetséges diszulfidhíd mintázat volt feltételezhető: *abcabc* és *abbacc*.

Előállítását szilárd-fázisú peptidszintézissel végeztük. Méreténél fogva kérdéses volt a lépésenkénti kondenzáció alkalmazhatósága. Fmoc kémiával nem is sikerült a szintézis, Boc kémiával pedig csak kb. 1%-os termelést sikerült elérni. A ciszteinek jelenléte miatt ezért a peptid két darabból történő szintézise, majd ezek natív kémiai ligációval (NCL) való összekapcsolása mellett döntöttünk.^{12,13,14} A natív kémiai ligáció kulcsvegyülete az N-terminális peptid tioésztere. Ez ellen indít támadást a folyamat első lépésében a C-terminális peptid N-terminálisán lévő cisztein szulfhidril csoportja. Az így létrejött tioészter köztitermék azután intramolekuláris S→N acilvándorlással átrendeződik és kialakul a két peptid között a természetes savamid kötés. A tioészter szintézisét egy általunk kidolgozott polimeren, a Cys-SH gyantán végeztük.¹⁵

Ennek előállítása úgy történik, hogy Fmoc-Cys(Trt)-OH-t kapcsolunk metil-benzhidril-amino (MBHA) polimerre, majd az Fmoc csoportot acetil-csoportra cseréljük. Ezt követően lehasítjuk a tritil-csoportot. A szabaddá váló



3. Ábra. A Cys-SH polimer szintézise. (A rövidítések feloldása a szövegben található.)

szulfhidril-csoportot ezután acilezzük az N-terminális peptid C-terminális aminosavával úgy, ahogy karboxil-végű peptidek szintézisére alkalmas polimerek hidroxil-csoportjaihoz kapcsoljuk az első aminosavat. A továbbiakban a peptid szintézise a szokásos módon történik. A Cys-SH polimer előállítását a 3. ábra mutatja: Trt (tritil), diciklohexil-karbodiimid (DCC), trifluor-ecetsav (TFA), 1-hidroxi-benzotriazol (HOBt), 4-dimetilamino-piridin (4-DMAP), szilárd fázisú peptidszintézis (SPPS). A munkánkhoz szükséges tioésztereket minden esetben ezen a hordozón állítottuk elő. A tisztított peptidek natív kémiai ligációval történő összekapcsolása 3% tiofenol jelenlétében, közel semleges pH-jú pufferben jó termeléssel szolgáltatta a terméket. A natív diszulfidhíd mintázat kiépítését két különböző módon kíséreltük meg: a cisztein SH csoportok ortogonális és azonos védelmével.

Ortogonalis stratégiánál a cisztein oldallánc védelmére legerterjedtebb Meb mellett acetamido-metil (Acm) és fluorenil-metil (Fm) csoportokat választottunk (4. ábra). A Meb lehasad a peptidnek a hordozóról történő hidrogén-fluoridos hasításával egyidejűleg. Az Acm jóddal, vagy átmenetifém sókkal (pl. Ag(I)- és Tl(III)-sók) hasítható, előbbi esetben össze is záródik a diszulfidhíd, míg az utóbbiban nem. Az Fm csoportot bázissal, például piperidinnel, lehet eltávolítani. A ligációt követően 7,5-es pH-jú pufferben, oxigén bekeverésével összezártuk az első diszulfidhidat. Az Acm és Fm csoportok eltávolítását és az diszulfidhidak zárását mindkét lehetséges sorrendben megkíséreltük, de egyik esetben sem sikerült a természetesnek megfelelő mintázat kiépítése. A közti termékek enzim hasítása és a fragmensek tömegspektrometriás vizsgálata bizonyította, hogy a bázis felbontotta a már meglévő diszulfid hidakat. Így a PAF esetében nem használható bázissal hasítható védőcsoport.

Ezt figyelembe véve terveztük meg a védőcsoport kombinációt az újabb szintézisnél: az Fm helyett fenil-acetamido-metil csoportot (Phacm) használtunk (4. ábra).¹⁶ A Phacm azon reagenseken kívül, melyek az Acm-et hasítják, penicillin G aciláz (PGA) enzimmel is

N-terminális peptid

AKYTGKCTKSKNECKYKNDAGKDTFIK-S-CH₂-CH-CONH₂

Acm	Fm	
Acm	Phacm	NHAc
Meb	Meb	

C-terminális peptid

CPKFDNKKCTKDNNKCTVDYNNNAVDCD

Meb	Acm	Fm	Meb
Meb	Acm	Phacm	Meb
Meb	Meb	Meb	Meb

4. **Ábra.** A PAF natív kémiai ligációval történő előállításához használt peptidok és az egyes szintéziseknél alkalmazott védőcsoportok.

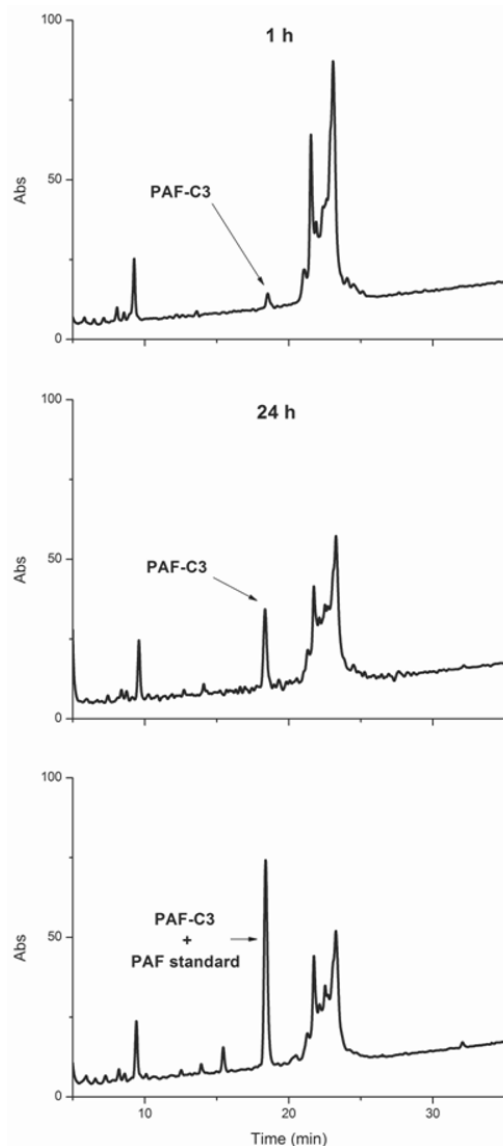
eltávolítható.¹⁷ A PGA-t penicillin származékok szintézisére használják, immobilizált, tehát hordozóhoz kötött formában. A nagy méretű és erősen kationos jellemű PAF esetén azonban nem váltotta be a hozzá fűzött reményeket. Néhány órás reakcióidő alatt a peptid „elfogyott” a reakcióelegyből, feltehetően a hordozóhoz történt aspecifikus kötődés következtében.

Az ortogonális stratégia sikertelensége miatt próbálkoztunk meg a cisztein oldalláncok azonos védelmével, a már említett Meb védőcsoport használatával. Ebben az esetben a ligációt követően 6 szabad SH csoport található a peptidben. Az előző fejezetekben tárgyalt toxinok példájából kiindulva azt vártuk, hogy az oxidatív folding a természetes diszulfidhíd mintázathoz vezet. De az első próbálkozások nem ezt mutatták. Megkíséreltük az oxidációt jóddal, savas közegben, kaotróp reagens használatával és anélkül, O₂ bekeverésével különböző pH-jú pufferekben (pH 7,5-10,5), CLEAR-OX gyantával, amelyet diszulfidhidak megfelelő kiépítésére fejlesztettek ki. De az említett módszerek egyikének használatával sem sikerült a természetes diszulfidhíd mintázat kiépítése. Egyetlen módszer bizonyult csak alkalmazhatónak: az ún. kis molekulák által közvetített oxidatív folding.¹⁷ Ezt olyankor használják, ha a natív diszulfidhíd mintázat kialakulása kinetikailag nem a legkedvezményezettebb. Ilyen esetekben – az oxidálószer mellett - szükség van egy redukálószerként funkcionáló kis molekulára (pl. cisztein, redukált glutation, cisztamin, 2-hidroxi-tántiol, ditiotritol) is. Legjobb termelést akkor értünk el, ha kis mennyiségű cisztein jelenlétében, oxigén bekeverésével alakítottuk ki az –S-S- hidakat. A sikeres oxidatív foldingot az 5. ábra mutatja.

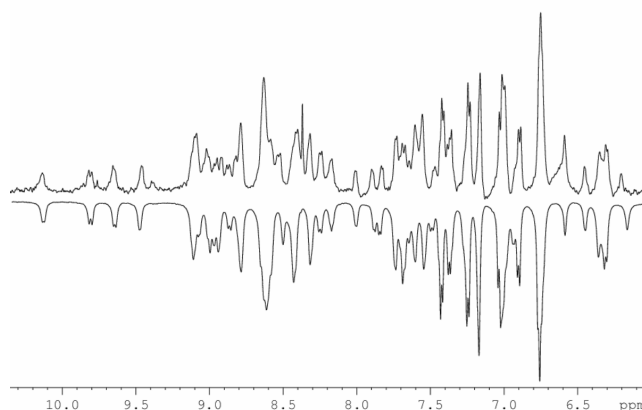
Kevésbé volt hatékony a glutation oxidált és redukált formáját tartalmazó rendszer. A termék enzimes emésztése és a fragmensek tömegspektrometriás vizsgálata, valamint NMR (6. ábra) és mikrobiológiai vizsgálatok is azt mutatták, hogy a szintetikus peptid minden tekintetben azonos a natívval. Tömegspektrometriás vizsgálatokkal sikerült bizonyítani a PAF *abcabc* diszulfidhíd mintázatát is.

3. Összefoglalás

A több diszulfidhidat tartalmazó polipeptidok szintézise még napjainkban sem számít rutin feladatnak. Ha azonos védőcsoportokat használunk a ciszteinek szulfhidril-csoportjainak védelmére, akkor az oxidatív folding a



5. **Ábra.** A PAF oxidatív foldingja a levegő oxigénjével, kis mennyiségű cisztein jelenlétében. (A PAF-C3 a szintetikus miniprotein.)



6. **Ábra.** A szintetikus (fent) és natív (lent) PAF ¹H-NMR spektruma.

kérdéses. Minden egyes peptidre meg kell találni azokat a körülményeket, amelyek között a természetes diszulfidhíd mintázat alakul ki. Ha ortogonális stratégiával próbálkozunk, akkor két probléma okoz nehézséget. Az egyik a

rendelkezésre álló szulfhidril védőcsoportok viszonylag szűk köre, amely Boc kémiát és natív kémiai ligációt alkalmazva különösen igaz. A másik pedig az a tény, hogy egyes védőcsoport eltávolítási módszerek felbonthatják az előzetesen kialakított diszulfid hidakat. Ez utóbbi esetben elveszítjük az ortogonális stratégia előnyét: a diszulfidhidak irányított kialakításának lehetőségét. Az általunk vizsgált esetekben, néhány toxin (charybdotoxin, iberiotoxin és anuroctoxin), valamint a PAF antifungális peptid szintézise során a cisztein oldalláncok azonos védőcsoporttal való ellátása vezetett jobb eredményre.

Köszönetnyilvánítás

A munka az Európai Unió és Magyarország támogatásával, a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047 keretei között valósult meg.

Hivatkozások

1. Du Vigneaud, V., Ressler, C., Swan, J. M., Roberts, C. W., Katsoyannis, P. G., Gordon, S. *Journal of the American Chemical Society* **1953**, *19*, 4879–4880.
2. Steiner, A. M., Bulaj, G. *Journal of Peptide Science* **2011**, *17*, 1–7.
3. Góngora-Benítez, M., Mendiola-Tapia, L., Ramos-Tomillero, I., Breman, A. C., Tulla-Puche, J., Albericio, F. *Organic Letters* **2012**, *14*, 5472–5475.
4. Liu, H., Boudreau, M. A., Zheng, J., Whittall, R. M., Austin, P., Roskelley, C. D., Roberge, M., Andersen, R. J., Vederas, J. C. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132*, 1486–1487.
5. Camarero, J. A., Giralt, E., Andreu, D. *Tetrahedron Letters* **1995**, *36*, 1137–1140.
6. Cuthbertson, A., Indrevoll, B. *Organic Letters* **2003**, *5*, 2955–2957.
7. Tóth, G. K., Pataricza, J., Janáky, T., Mák, M., Zarándi, M., Papp, J. G., Penke, B. *Peptides* **1995**, *16*, 1167–1172.
8. Varga, Z., Panyi, G., Tóth, G. K., Rákosi, K. WO Patent WO2013061106A1 **2013**, *PCT Int. Appl.* 27pp. Patent 2013 CODEN:PIXXD2
9. Marx, F., Haas, H., Reindl, M., Stoffler, G., Lottspeich, F., Redl, B. *Gene* **1995**, *167*, 167–171.
10. Batta, G., Barna, T., Gáspári, Z., Sándor, S., Kövér, K. E., Binder, U., Sarg, B., Kaiserer, L., Chhillar, A. K., Eigentler, A. et al. *Febs Journal* **2009**, *276*, 2875–2890.
11. Palicz, Z., Füzi, M., Szentesi, P., Hegedüs, C., Leiter, É., Pócsi, I., Csernoch, L. *Acta Physiologica Hungarica* **2010**, *97*, 468–468.
12. Dawson, P. E., Muir, T. W., Clark-Lewis, I., Kent, S. B. H. *Science* **1994**, *266*, 776–779.
13. Dawson, P. E., Kent, S. B. H. *Annual Review of Biochemistry* **2000**, *69*, 923–960.
14. Kent, S. B. H. *Chemical Society Reviews* **2009**, *38*, 338.
15. Váradi, G., Tóth, G. K., Kele, Z., Galgóczy, L., Fizil, Á., Batta, G. *Chemistry – A European Journal* **2013**, *19*, 12684–12692.
16. Xiang, H., Xiang, G. Y., Lu, Z. M., Guo, L., Eckstein, H. *Amino Acids* **2004**, *27*, DOI 10.1007/s00726-003-0061-5
17. Lees, W. J. In *Folding of Disulfide Proteins*; Chang, R. J. Y and Ventura, S. Eds.; Springer: New York, **2011**, pp 109–132.

Synthesis of multiple disulfide bond containing peptides

Cysteine is one of the most interesting amino acids. Its sulfhydryl group plays an important role in complexation of metal ions, in biological redox systems (e.g. glutathione), and also in acyl donor compounds (coenzyme A). Besides, sulfhydryl groups form disulfide bridges which are essential in stabilization of the three-dimensional structures of proteins. The Nobel prize in 1955 was awarded to Vincent du Vigneaud for his work on the synthesis of disulfide bridge containing hormones.¹ Those hormones he worked on had only one disulfide bond. Even this can form in two different ways: either in an intra- or in an intermolecular manner.

Many biologically active peptides are known to contain multiple disulfide bridges, e.g. peptide toxins, endothelins, insulins, and antimicrobial miniproteins. In spite of the progresses and efforts in peptide chemistry, the regioselective formation and verification of the disulfide bond pattern are still challenging.^{2,3} The present study shows new methods for the synthesis of multiple disulfide-bridged peptides such as pharmacologically important toxins and antifungal miniproteins, and determination of the disulfide bond pattern in the synthesized compounds.

There are two strategies for the preparation of multiple disulfide bond containing peptides:^{4,5,6}

1. Nonselective protection of cysteine side chains and subsequent oxidative folding of polythiol precursors.
2. Stepwise formation of the disulfide bonds using orthogonal protection of the cysteine thiols.

First the synthesis of charybdotoxin and iberiotoxin, two 37-mer scorpion toxins containing 3 disulfide bridges was carried out (see Figure 1). These toxins block the Ca²⁺ activated K⁺ channel that

has importance in the regulation of the cardiovascular system. The toxins were synthesized by solid-phase peptide synthesis applying standard Boc chemistry and nonselective protection of the cysteines. Folding was carried out in a pH 8.7 glycine-NaCl buffer containing 2M urea as chaotropic agent. The disulfide bond pattern of the synthetic peptides was proved by mass spectrometry (MS) and HPLC coelution with native standard toxins.⁷

Beside these two potassium channel blockers, anuroctoxin, a polypeptide produced by the Mexican scorpion *Anuroctonus phaeodactylus* was also synthesized. Anuroctoxin contains 35 amino acids and 8 cysteines (Figure 1). The synthesis was carried out on the solid phase using Boc chemistry. Sulfhydryl groups of cysteines were protected in a nonselective manner. Different folding methods were tried and found to be successful, among them oxidation with DMSO in a pH 6.5 ammonium acetate buffer, or with cystine-cysteine in a pH 8.4 Tris buffer, and also air oxidation in a pH 8.9 glycine-NaCl buffer. But, when iodine was used in an acidic solution, two peptides having unnatural disulfide bridge pattern were formed beside the native one (see Figure 2).⁸

Antimicrobial peptides represent another class of naturally occurring peptides that contain multiple disulfide bonds. PAF is a 55-mer antifungal protein produced by the fungus *Penicillium chrysogenum*.^{9,10} (The sequence can be seen in Figure 1.) PAF is harmless for mammals as it was proven in recent PET experiments.¹¹ The structure of PAF is stabilized by three disulfide bridges.¹⁰ According to NMR investigations, two different patterns were possible: *abcabc* and *abbacc*.

The first attempt to synthesize PAF was a stepwise synthesis on the solid phase. The usage of Fmoc chemistry did not lead to the

desired product at all. The application of Boc chemistry found to be more successful, but the yield of the synthesis was only 1%. Since PAF has 6 cysteine residues, we decided to synthesize the peptide by native chemical ligation (NCL). Native chemical ligation is a type of orthogonal chemical ligation.^{12,13,14} The key compound of it is the thioester of the N-terminal peptide. The process starts with the nucleophilic attack of the thioester on the SH group of the N-terminal cysteine of the C-terminal peptide. We worked out the synthesis of a new, universally applicable solid support named as Cys-SH resin for the preparation of peptide thioesters in Boc chemistry (see Figure 3), and all of the thioesters of this work were prepared on this resin.¹⁵

Both strategies, namely selective and nonselective protection of cysteine side chains were tried for PAF. On our first attempt, 4-methylbenzyl (Meb), acetamidomethyl (Acm), and fluorenylmethyl (Fm) protecting groups were used (see Figure 4). Meb is cleaved in parallel with the detachment of the peptide from the resin, Acm can be removed by iodine or transition metal ions, e.g. Ag(I)- and Tl(III) salts, while Fm can be cleaved by a base such as piperidine. If iodine is used for the cleavage of Acm, it oxidizes the SH groups to disulfide bridge, too. But the basic treatment for the removal of Fm requires an additional oxidation step after that. Two possible orders of the cleavage of these protecting groups were tried: Acm first, Fm after that and the opposite order. But, in both cases, an unnatural disulfide bridge pattern formed. Enzymatic cleavage of the intermediates and their MS investigation proved that basic treatment rearranged the previously formed disulfide bonds. To overcome this problem, phenylacetamidomethyl (Phacm) was used instead of Fm on our second attempt (see Figure 4).¹⁶ Beside those reagents that cleaves Acm, Phacm can be removed enzymatically by penicillin G amidase (PGA).¹⁷ Unfortunately, the highly cationic and relatively large molecule of PAF nonspecifically bound to the

carrier of immobilized PGA, therefore, Phacm could not be used in the preparation of this miniprotein.

Because of the failure of orthogonal protection, sulfhydryl groups of cysteines were protected nonselectively on our next attempt. Detachment of the peptide from the resin cleaved the protecting groups from all of the 6 cysteine residues. Different conditions were tested for the folding of the hexasulfhydryl peptide: usage of iodine in an acidic solution, oxidation with the oxygen of air in buffers having different pH from 7.5 to 10.5 both in the presence and in the absence of a chaotropic agent, application of CLEAR-OX, a special resin for the formation of disulfide bridges. But none of these provided native peptide. Only one condition was found in which cysteines paired correctly: folding of PAF with the help of a small molecule reducing agent. This method used to be successful for the folding of those peptides and proteins whose thermodynamically most stable disulfide pattern is not the same as the native one. In these cases, the applied reducing agent reduces the previously formed, incorrect S-S bridges, and thus, allows the right fold. In our most successful procedure, folding of PAF was carried out in a pH 7.5 ammonium acetate buffer with the use of the oxygen of the air in the presence of small amount of cysteine as reducing agent (see Figure 5). Beside this, the application of oxidized and reduced glutathione led to the desired product, too. According to MS, NMR and microbiological investigations, synthetic PAF was found to be identical with the native miniprotein (see Figure 6). MS studies revealed the *abcabc* disulfide pattern for both the synthetic and the native peptide.

Based on our results, it can be concluded, that nonselective protection of the sulfhydryl groups of cysteines was found to be more successful for the synthesis of some toxins and an antifungal miniprotein.

Rákellenes gallium(III)komplexek oldategyensúlyi jellemzése és szérumfehérjékkel való kölcsönhatásuk vizsgálata

DÖMÖTÖR Orsolya,^a BALI Krisztina,^a HETÉNYI Anasztázia,^b és ENYEDY Éva Anna^{a,c,*}

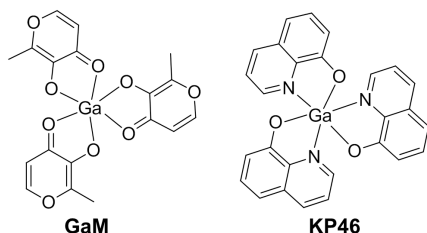
^aSzegedi Tudományegyetem, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Dóm tér 7., 6720, Szeged, Magyarország

^bSzegedi Tudományegyetem, Orvosi Vegytani Intézet, Dóm tér 8., 6720, Szeged, Magyarország

^cSzegedi Tudományegyetem, MTA Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoport, Dóm tér 7., 6720, Szeged, Magyarország

1. Bevezetés

A rákellenes terápiában már évtizedek óta az egyik leggyakrabban alkalmazott szer a *ciszpaltin*. Mindezek ellenére a klinikai felhasználhatóságát erősen behatárolják a kezeléskor fellépő súlyos mellékhatások, valamint a vele szemben fennálló, vagy a kezelések során kialakuló rezisztencia.¹ A gallium(III)ion a platina után másodikként került felhasználásra a klinikumban. Diagnosztikai leképezésre használnak ⁶⁷Ga és ⁶⁸Ga izotópokat. Maga a Ga(NO₃)₃ is rendelkezik rákellenes hatással főként limfómás, ill. leukémiás esetekben, ugyanakkor rákos megbetegedéseket kísérő hiperkalcémia kezelésében is alkalmazzák (citráttal stabilizálva: GaniteTM).² A Ga(NO₃)₃ farmakokinetikája azonban kedvezőtlen, mert a só hidrolizál és a képződő hidroxido komplexek gyorsan kiürülnek a szervezetből. Gyors infúzióban adva a só vesekárosító volt, lassú infúzióban látóideg károkat okozott.² A legoptimálisabb a tartósan alacsony Ga(III) koncentráció fenntartása lenne a vérplazmában, ezt pedig alkalmas komplexekkel lehet biztosítani. Az oktaédres *trisz*-ligandumú Ga(III)-komplexek ígéretes csoportját képezik ezen vegyületeknek; ilyen komplexek a *trisz*(3-hidroxi-2-metil-4H-pirán-4-onáto)Ga(III) (GaM) és a *trisz*(8-kinolinoláto)Ga(III) (KP46). Az előbbi és az utóbbi fémkomplex ligandumait a továbbiakban maltoként és oxinként fogjuk említeni.



1. Ábra. A két fémkomplex képlete.

A két fémkomplex jelenleg klinikai fázis I/II tesztelés alatt áll. Mindkét komplex szájon át adagolható, mérsékelt mellékhatásokkal rendelkezik, és nem mutatnak kereszt-rezisztenciát a Ga(NO₃)₃-tal.^{3,4} Feltételezett hatásmódjuk azon alapul, hogy a Ga(III) sok szempontból hasonlít a Fe(III)-ionra; például töltés, ionsugár, elektronegativitás és koordinációs kémiai sajátosságuk tekintetében, így képes elfoglalni a Fe(III) helyét számos fehérjében; ugyanakkor redoxi folyamatokban nem vesz részt, mert a Ga(III) fiziológiai körülmények között nem vegyértékváltó, ellenben a Fe(III/II) rendszerrel. Első számú támadáspontként a ribonukleotid redukált tartják számon, ami a DNS szintézisben játszik szerepet. Az enzim gátlása a sejtek

apoptózisához vezet.⁵ A fém(komplexek) szállítását irodalmi adatok szerint a vérben feltételezhetően a Fe(III) szállító transzferrin (Tf) végzi.^{6,7} A humán szérum albumin (HSA) szerepe ezek szerint igen csekély, ugyanakkor figyelembe kell venni az albumin nagy szérum koncentrációját, valamint kiemelkedő kapacitását különféle anyagok szállításában.

Mindkét fémkomplex klinikai tesztelése igen előre-haladott, ennek ellenére stabilitásukról, a vérplazmában feltételezhető formájukról, ill. a szérumalkotókkal kialakított esetleges kölcsönhatásokról kevés és hiányos információ található az irodalomban. Korábbi közleményünkben⁸ a két fémkomplex oldategyensúlyi viselkedését jellemeztük. Kutatásainkat folytatva vizsgáltuk a komplexek lehetséges kölcsönhatásait kis molekulatömegű vérszérum alkotókkal, valamint HSA-nal és apo-transzferrinnel (apoTf). A vizsgálatokhoz pH-potenciometriát, UV-, fluoreszcencia-, valamint ¹H NMR spektroszkópiát és ultraszűrési technikát alkalmaztunk.

2. Eredmények és értékelésük

2.1. Oldategyensúlyi vizsgálatok

A komplexképzési folyamatok vizsgálata előtt a ligandumok protondiszociációs állandóit határoztuk meg pH-potenciometriás módszerrel (1. Táblázat). A maltol egyetlen deprotonálódási folyamattal jellemezhető, ami a hidroxilcsoportokhoz köthető folyamat. Az oxin kisebb pK_a-ja feltehetőleg a kinolin NH⁺ deprotonálódásához tartozik, míg a pK₂ a fenolos OH-hoz köthető. Az értékek jó egyezést mutattak az UV fotometriás mérésekkel és irodalmi adatokkal.^{9,10}

A Ga(III) és a maltol közti komplexképzési folyamatokat elsősorban pH-potenciometrián követtük, a meghatározott komplex stabilitási szorzatokat (lgβ) az 1. táblázat tartalmazza. Mindez jó egyezést mutat a spektrofotometriás mérések eredményeivel. A pH 2-11,5 tartományban [GaL]²⁺, [GaL₂]⁺, valamint [GaL₃] sztöchiometriájú komplexek képződése figyelhető meg vizes oldatban. Ezt az ¹H NMR spektrumokon külön megjelenő jelek is igazolták. Az állandók segítségével számolt koncentrációeloszlási görbék alapján 7,4-es pH-n mM-os koncentrációtartományban a semleges töltésű [GaL₃] forma az uralkodó részecske (95%) vizes oldatban.

Az oxin és a Ga(III) komplexképződési folyamatainak tanulmányozása tisztán vizes oldatban a pH-metriához

* Tel.: +36 62/544 334; fax: +36 62/433 053; e-mail: enyedy@chem.u-szeged.hu

szükséges mM-os koncentrációtartományban nem volt lehetséges, mivel a képződő $[\text{GaL}_3]$ komplex vízdíthatósága igen rossz. Ezért 30, ill. 60% (m/m) DMSO/víz közegben határoztuk meg pH-potenciometriásan a stabilitási állandókat. A méréseket az oxin egy származékával a szulfoxinnal (8-kinolinol-5-szulfonát) is elvégeztük. A két ligandum komplexképzési sajátosságai igen hasonlóak, viszont a szulfoxin komplexek vízdíthatósága jóval nagyobb, ezért itt tisztán vizes közegben is lehetséges volt a stabilitási szorzatok meghatározása. A különböző közegben meghatározott állandók lineáris összefüggést mutattak az oldószer(elegyek) relatív permittivitásának reciprokával, így az oxin Ga(III) komplexjeinek stabilitási állandóit a DMSO tartalmú mérések, valamint a szulfoxinra számolt értékek meredeksége alapján extrapoláltuk. Az így számolt állandók viszonylag jó egyezést mutattak a fotometriásan (nagy úthossz mellett) meghatározott állandókkal (1. táblázat).

1. Táblázat. A ligandumok savi disszociációs állandói (pK), valamint Ga(III)-ionnal képzett komplexek stabilitási szorzatai ($\lg\beta$) pH-potenciometriás és más technikákkal meghatározva ($t = 25,0^\circ\text{C}$, $I = 0,2\text{ M KCl}$)^a

	Oxin	Maltol
$\text{p}K_1$	4,99	8,45
$\text{p}K_2$	9,51(1)	-
$\lg\beta[\text{GaL}]^{2+}$	13,13 ^b	10,63 ^b
	13,09 ^c	
$\lg\beta[\text{GaL}_2]^+$	25,54 ^d	21,07
	25,76 ^c	
$\lg\beta[\text{GaL}_3]$	36,79 ^d	28,77
	36,64 ^c	

^a .A 8. hivatkozásból vett értékek.

^b UV spektroszkópia, egyedi minták (pH 1-2).

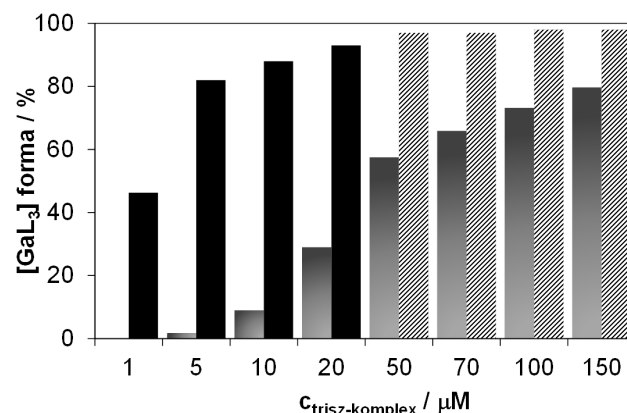
^c Extrapolált adatok a 30 és 60% (m/m) DMSO/H₂O mérések $\lg\beta$ értékei alapján.

^d Fluorimetriás titrálások (pH > 2).

Az oxin esetében egy további módszer is kínálkozott komplex stabilitási állandók meghatározására tisztán vizes közegben, ugyanis az egyébként csak gyengén fluoreszkáló oxin fluorogén aktivitással rendelkezik, és Al(III) vagy Ga(III)-ionokhoz koordinálódva megsokszorozódik az emissziója. A fluorimetria jellemzően híg oldatokat (μM -os koncentrációk) igénylő technika, így alkalmas rossz oldhatóságú anyagok vizsgálatára. A fentieket kihasználva határoztunk meg stabilitási szorzatokat fluorimetriás módszerrel is. Az így kapott értékek összevethetők az előbbi két technikával számoltakkal. Az oxin esetében is azt találtuk, hogy pH = 7,4-n a $[\text{GaL}_3]$ forma, tehát a KP46 komplex a szinte kizárólagosan jelenlévő részecske.

A két ligandum Ga(III)-kötő képességétől függ, hogy mennyire képesek megakadályozni a fémion hidrolízisét. Az oxinnal képzett triszkomplex stabilitási szorzata ~8 nagyságrenddel nagyobb, mint a maltol esetében. Ez azt vonja maga után, hogy igen híg – ugyanakkor fiziológiás szempontból releváns – koncentrációtartományban az oxin képes megakadályozni a komplex disszociációját, míg a maltol csak részben (2. ábra). Ennek következtében a két

komplex várható vérszérumbeli eloszlása eltérő, hiszen a KP46 komplex nagy stabilitása révén kevésbé képes ligandumcsere folyamatokban részt venni, mint a trisz-maltoláto komplex.



2. Ábra. A Ga(III) maltollal (szürke oszlopok) és oxinnal (fekete oszlopok) képzett triszkomplexének stabilitása az analitikai komplex koncentráció függvényében 7,4-es pH-n. Az átlósan csíkozott oszlopok a komplex vízdíthatatlan koncentrációtartományát jelölik. ($t = 25,0^\circ\text{C}$, $I = 0,20\text{ M (KCl)}$)

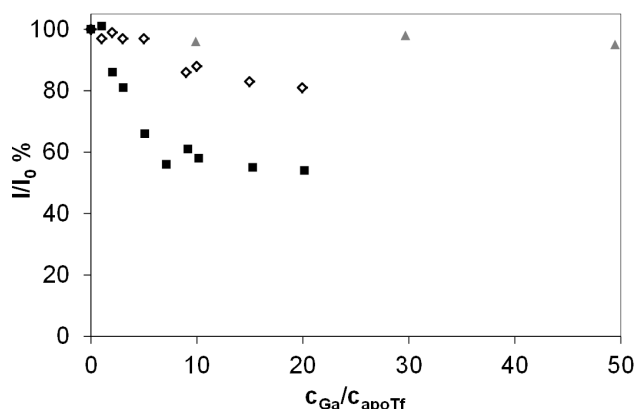
A KP46 intenzív fluoreszcens tulajdonságát kihasználva fluoreszcens mikroszkópos technikával sikerült a komplex sejtekbe jutását is követni. Az SW480 vastagbélrák sejteken végzett vizsgálatok tanúsága szerint a komplex több órán keresztül stabilis maradt sejtes környezetben. Az is megfigyelhető volt, hogy a komplex percek alatt felhalmozódott a sejtekben, majd idővel a sejtmag körüli lemezes képletekben, feltehetően az endoplazmás retikulumban, ill. annak fehérje összetevőiben dúsult fel.

2.1. Vizsgálatok vérszérum komponensekkel

Vizsgálatainkat a vérplazma alkotókkal való kölcsönhatások tanulmányozásával folytattuk fiziológiás pH-n. A kis molekulatömegű szérumkomponensek közül a citrát, az oxalát és a foszfát, mint lehetséges komplexképzők a vérben lévő koncentrációjuk mellett nem tudták kiszorítani sem a maltolt, sem az oxint a Ga(III) koordinációs szférájából ($c_{\text{KP46}} = 20\text{ }\mu\text{M}$, $c_{\text{GaM}} = 80\text{ }\mu\text{M}$).

A HSA 630 μM -os koncentrációjával a vérplazma fehérjetartalmának ~60%-át teszi ki. Számos vegyülettípus (zsírsavak, szteroidok, gyógyszer hatóanyagok) nem specifikus megkötésére és szállítására alkalmas. Az exogén szerves anyagok megkötése elsősorban két hidrofób zsebben (I. és II. kötőhely) történhet. Mivel a HSA elsősorban a teljes fémkomplex (és nem a Ga(III)ion) megkötésére lehet alkalmas, ami a ligandumokkal való másodlagos kölcsönhatások kialakításán alapul, így kézenfekvő volt a ligandumok és a HSA kölcsönhatását is vizsgálni. Korábbi eredményünk alapján a maltol csak gyengén kötődik a HSA II-es kötőhelyén.¹¹ Az I-es kötőhelyen fluorimetriás vizsgálatok alapján nincs mérhető kölcsönhatás; ugyanez elmondható volt a GaM komplexről is. ¹H NMR-es kísérleteink és ultraszűrési méréseink is azt bizonyították, hogy a GaM komplex és a fehérje között nem alakul ki számottevő kölcsönhatás.

További kölcsönható partnerként az apoTf-t vizsgáltuk. Az egyébként két Fe(III) szállítására alkalmas fehérje képes megkötni a Ga(III)-iont is ($\lg K'_1 = 20,3$, $\lg K'_2 = 19,3$),¹² miközben a fém koordinációs szférája részben vagy egészben a fehérje donatoratomjaira cserélődik. A maltol kötődését a fehérjéhez előzetes vizsgálatok alapján kizártuk. A ^1H NMR mérések azt mutatták, hogy a komplexben kötött maltol jelei mellett a fehérje jelenlétében megjelenik a szabad, fémkomplexben nem kötött maltol is, amelynek mennyisége még nagyobb lesz, ha a kötődést elősegítő szinergista HCO_3^- is jelen van a rendszerben. A kölcsönhatás tényét UV fotometriás mérésekkel és fluorimetriásan is követtük. Az utóbbi technika azt használja ki, hogy a Tf vaskötő helyén két Tyr aminosav található, melyek 280 nm-en gerjesztve intenzíven emittálnak, a fémion bekötődésével ez az emisszió kioltódik.

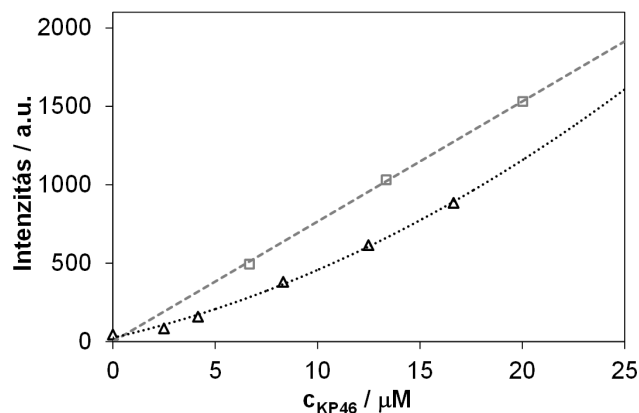


3. Ábra. Az apoTf fluoreszcens intenzitásának százalékos változása GaM (■), KP46 (◇), ill. GaCl_3 (▲) hozzáadásának hatására az apoTf saját intenzitásához (I_0) vonatkoztatva. ($\lambda_{\text{EX}} = 280$ nm; $\lambda_{\text{EM}} = 340$ nm; $c_{\text{apoTf}} = 0,2$ vagy 2 μM ; $c_{\text{komplex}} = 0,2$ – 4 μM vagy $c_{\text{GaCl}_3} = 20$ – 100 μM ; pH = 7,4 (HEPES); $t = 25,0$ °C)

A 3. ábrán jól látható a fehérje emissziójának csökkenése a növekvő GaM komplex koncentrációjának függvényében. A kísérletet GaCl_3 -dal is elvégeztük, ahol azonban a termodinamikai alapon várt kvantitatív kötődés helyett nem tapasztaltunk kioltást, még több tízszeres fémfelesleg esetén sem. Feltehetőleg a fiziológiás körülmények közt GaCl_3 -ból képződő Ga-hidroxido komplexek inertségének tudható be, hogy kioltást még 4 óra elteltével sem tapasztaltunk. A rendelkezésre álló termodinamikai állandók ismeretében a Ga(III) szérumbeli eloszlására próbáltunk következtetni figyelembe véve, hogy a maltoláto komplex nem kötődik a HSA-hoz, ill. hogy a Tf kötőhelyek a vérben átlagosan 31%-ban Fe(III)-ionnal telítettek. Azt találtuk, hogy a Ga(III) ~30 μM -os komplex koncentrációig szinte kizárólag a Tf-hez kötődik, majd az ettől nagyobb koncentrációk esetén megjelenik a disszociálatlan szabad komplex. Hidroxido komplexek nem képződnek a rendszerben.

A KP46 komplex sokkal stabilisabb, mint a GaM, ahogyan a 2. ábra is mutatja. Ennek megfelelően a koordinált oxin Tf donatoratomokra való cseréje is feltehetően kisebb mértékben játszódik le, mint a maltoláto komplex esetében (3. ábra). A Tyr kioltásos vizsgálatokon kívül itt lehetőség volt a fémkomplex saját emisszióján keresztül is követni a ligandumcsere folyamatokat. 367 nm-es gerjesztésnél az apoTf távollétében a komplex emissziós intenzitása lineárisan nő a komplex koncentrációjával (4. ábra). A

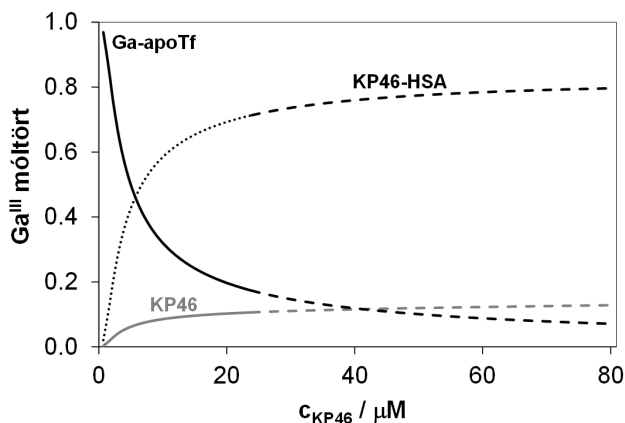
fehérje jelenlétében ez a növekedés az előbb említett kalibráció alatt fut, később pedig párhuzamossá válik vele. Ez azzal magyarázható, hogy a Tf megköti a Ga(III)-iont, a szabadon maradó oxin pedig gyengén emittál.



4. Ábra. Az apoTf-KP46 rendszer fluorimetriás emissziós intenzitásai: KP46 kalibrálás (□), apoTf+KP46 (Δ) ($\lambda_{\text{EX}} = 367$ nm; $\lambda_{\text{EM}} = 532$ nm; $c_{\text{apoTf}} = 25$ μM ; $c_{\text{KP46}} = 2,5$ – 17 μM ; pH = 7,4 (HEPES); $t = 25,0$ °C)

Ebből a feltételezésből kiindulva a mérési pontok alapján kiszámoltuk a Tf-hez kötött Ga mennyiségét, ez pedig igen jó egyezést mutatott a termodinamikai alapon vártakkal. Ezeket az eredményeket UV fotometriás és STD NMR mérésekkel is alátámasztottuk. Utóbbi módszerrel sikerült a ~10 μM -os koncentrációtartományban igazolni a szabad oxin megjelenését apoTf-t és KP46-ot tartalmazó mintákban. A megjelenő szabad ligandum mennyisége szintén nem mond ellent a modellszámításoknak. Ezek szerint $[\text{Ga}_2\text{-Tf}]$ komplex alig, a $[\text{Ga-Tf}]$ pedig kb. 30%-ban van jelen egy olyan rendszerben, amely fiziológiás mennyiségű apoTf-t és 20 μM KP46-ot tartalmaz.

A KP46 HSA-nal való kölcsönhatását már vizsgálták korábban is, de azt igen gyengének, – éppen ezért a Tf-hez hasonlítva – szinte elhanyagolhatónak találták.^{6,7} A HSA Tf-hez viszonyított közel hússzoros szérumbeli koncentráció többletét figyelembe véve azonban egy viszonylag gyenge kölcsönhatás is jelentősen befolyásolhatja a Ga(III) szérumbeli eloszlását. Vizsgálatainkat az oxin és a HSA kölcsönhatásának tanulmányozásával folytattuk. A fluorimetriás mérések és az UV fotometriás különbségspektrumok tanúsága szerint az oxin képes kötődni a fehérjéhez, az eredmények azonban nem voltak alkalmasak mennyiségi kiértékelésre. Az STD NMR mérések is az oxin kötődését mutatták a fehérjéhez. Ugyanezzel a technikával a KP46 komplex kötődése is követhető volt a HSA-hoz. Fluorimetriásan a KP46 saját emisszióját követve azt tapasztaltuk, hogy komplex rögzített koncentrációja mellett az egyre növekvő HSA mennyiségével az intenzitás nem additív módon növekszik, a görbe telítési jellegű. Ezekből a mérésekből egy közepes értékű ($\lg K' = 4,04$) látszólagos kötési állandót számoltunk. A megfelelő állandók ismeretében modelleztük a Ga(III) eloszlását fiziológiás HSA és Tf koncentrációk mellett (5. ábra). Látható, hogy a HSA-hoz való kötődés KP46 komplexként igen jelentős, 20 μM -os komplex koncentrációnál a Ga(III) 65%-a található ilyen formában, míg 20–25% Tf-hez kötődik. A fennmaradó mennyiség pedig szabad KP46-ként található a rendszerben.



5. Ábra. A KP46 komplex koncentrációeloszlási görbéi fiziológiai pH-n 37 μM -os apoTf, 630 μM -os HSA és a komplex változó analitikai koncentrációja mellett

3. Összefoglalás

Vizsgálataink révén bizonyítottuk, hogy fiziológiai pH-n a mM-os koncentrációtartományban mindkét ligandummal a $[\text{GaL}_3]$ összetételű komplexek az uralkodó részecskék. Az oxin esetében ez a tendencia még 10 μM -os komplex koncentrációnál is érvényesül, míg a maltol esetében ugyanilyen koncentrációban már a Ga(III) 90%-ban hidroxido komplexeket képez. A KP46 esetében sikerült követni a komplex sejtekbe jutását és az endoplazmás retikulumban való felhalmozódását. A vérérum kis molekulatömegű alkotói közül a citrát, az oxalát és a foszfát nem képes kiszorítani a maltolt vagy az oxint Ga(III) -komplexéből. A GaM komplex és a HSA között nem volt mérhető kölcsönhatás, az apoTf-hez viszont ligandumcsere révén kötődött a Ga(III) , így a fémion felvétele a sejtbe Tf receptorokon keresztül valósulhat meg. A KP46 szintén ligandumcsere folytán lép reakcióba az apoTf-nel, a kötődés mértéke megfelel a termodinamikai alapon vártaknak. Mérsékelt kötődést találtunk a KP46 és a HSA között, ami a fehérje szérumbeli nagy részarányát figyelembe véve nem elhanyagolható, itt a Tf-független sejtekbe való felvétel lehetősége is felvetődik.

4. Kísérleti rész

Az oldategyensúlyi vizsgálatok részletes kísérletes leírása a 8. hivatkozásban található meg. A vérérum alkotókkal végzett vizsgálatok pH 7,4-n pufferelt közegben 20 mM HEPES (apoTf esetén további 25 mM szinergista NaHCO_3 hozzáadásával) 25 °C-on készültek.

A fehérjék emisszióján keresztül követett fluorimetriás vizsgálatok (Hitachi F4500 fluoriméter) 0,2–2 μM fehérjekoncentráció és 0–20 ekv. fémkomplex/ligandum összetétellel készültek. $\lambda_{\text{EX}} = 280 \text{ nm}$ (apoTf, Tyr); $\lambda_{\text{EX}} = 295 \text{ nm}$ (HSA, Trp), $\lambda_{\text{EM}} = 290\text{--}400 \text{ nm}$ résszélesség: 5 nm/5 nm. A KP46 oldaláról vizsgálva a komplex koncentráció 0–30 μM , a fehérje koncentráció pedig 0–100 μM közt változott; $\lambda_{\text{EX}} = 367 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{EM}} = 450\text{--}650 \text{ nm}$, résszélesség: 10 nm/10 nm. A minták önabszorpcióját figyelembe vettük a kiértékelés során. Kvantitatív kiértékeléshez a PSEQUAD programot¹³ használtuk, a számolás alapjául szolgáló összefüggések a 8. hivatkozás mellékletében találhatók meg.

^1H NMR vizsgálatokhoz (Bruker Ultrashield 500 Plus készülék) 1 mM GaM és 0,5 mM fehérje tartalmú mintákat használtunk. Az STD NMR mérések (Bruker AV600 készülék, cryo probe) nagy scan szám mellett 20 μM KP46 vagy 60 μM oxin és 5 μM HSA vagy 20 μM apoTf jelenlétében készültek. Minden minta 10% D_2O -t tartalmazott.

UV fotometriás mérésekhez (Hewlett Packard 8452A diódasoros fotométer) 10 μM fehérje és 0–5 ekv. komplex tartalmú minták készültek 1 vagy 2 cm-es úthosszt használva. Ultraszűrő–UV méréseket 100 μM -os koncentrációtartományban végeztünk Microcon YM-10, Amicon, Millipore membránszűrőket használva.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetet mondanak az alábbi támogatásokért: OTKA PD103905 és PD83600; A kutatás az EU és Magyarország támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretei között valósult meg.

Hivatkozások

1. Jung, Y.; Lippard, S.J. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 1387–1407.
2. Collery, P.; Keppler, B.K.; Madoulet, C.; Desoize, B. *Critic. Rev. Oncol. Hematol.* **2002**, *42*, 283–296.
3. Jakupec, M.A.; Keppler, B.K. *Curr. Top. Med. Chem.* **2004**, *4*, 1575–1583.
4. Jakupec, M.A.; Galanski, M.; Arion, V.B.; Hartinger, C.G.; Keppler, B.K. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2008**, 183–194.
5. Narasimhan, J.; Antholine, W.E.; Chitambar, C.R. *Biochem. Pharmacol.* **1992**, *44*, 2403–2408.
6. Groessl, M.; Bytsek, A.; Hartinger, C.G. *Electrophoresis* **2009**, *30*, 2720–2727.
7. Bernstein, L.R. *Pharmacol. Rev.* **1998**, *50*, 665–682.
8. Enyedy, É.A.; Dömötör, O.; Varga, E.; Kiss, T.; Trondl, R.; Hartinger, C.G.; Keppler, B.K. *J. Inorg. Biochem.* **2012**, *117*, 189–197.
9. Enyedy, É.A.; Horváth, L.; Gajda-Schranz, K.; Galbács, G.; Kiss, T. *J. Inorg. Biochem.* **2006**, *100*, 1936–1945.
10. Tsakovski, S.; Benkhedda, K.; Ivanova, E.; Adams, F.C. *Anal. Chim. Acta* **2002**, *453*, 143–154.
11. Enyedy, É.A.; Horváth, L.; Hetényi, A.; Tuccinardi, T.; Hartinger, C.G.; Keppler, B.K.; Kiss, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 4202–4210.
12. Harris, W.R.; Pecoraro, V.L. *Biochem.* **1983**, *22*, 292–299.
13. Zékány, L.; Nagypál, I. *Computational Methods for the Determination of Stability Constants*; Leggett, D.L., Ed.; Plenum Press: New York, **1985**; pp 291–353.

Solution studies of antitumor gallium(III) complexes and their interactions with human serum proteins

Platinum complexes are used in therapy but serious side effects and resistance of tumors led to extensive investigation of non-platinum antitumor agents.¹ Gallium was the second metal ion after platinum to be administered to cancer patients in various clinical trials. Remarkably, the simple salt $\text{Ga(NO}_3)_3$ exerts antineoplastic activity in particular against lymphoma and bladder cancer and showed therapeutic effect in the treatment of cancer

related hypercalcemia (GaniteTM in clinical use).² However, the bioavailability of $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ as an anticancer drug is restricted by formation of hydroxido complexes. Six-coordinated tris-ligand $\text{Ga}(\text{III})$ complexes are a promising group of compounds. Tris(3-hydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-onato) $\text{Ga}(\text{III})$ (GaM) and tris(8-hydroxyquinolino) $\text{Ga}(\text{III})$ (KP46) are the most promising Ga-antitumor complexes undergoing clinical trials. The mode of action of $\text{Ga}(\text{III})$ anticancer drugs is probably related to the similarity of $\text{Ga}(\text{III})$ to $\text{Fe}(\text{III})$ in terms of charge, ionic radius, electronegativity, electron affinity and coordination geometry. At the same time $\text{Ga}(\text{III})$ is redox inactive in physiological conditions, hence it can interfere with the cellular iron metabolism but cannot participate in biologically important redox processes. According to literature data $\text{Ga}(\text{III})$ is able to bind to the iron sites of transferrin (Tf), which promotes the cellular absorption of $\text{Ga}(\text{III})$, in particular in proliferating cancer cells with elevated iron demand.^{6,7} The role of human serum albumin (HSA) supposed to be negligible, although it has to be considered the high amount and extraordinary binding capacity of HSA in blood plasma. Our investigations are focused on the solution equilibrium behavior of these complexes and on their interaction with serum components such as HSA and Tf. These studies were carried out using pH-potentiometry, UV spectrophotometry, ¹H-NMR spectroscopy, spectrofluorometry and ultrafiltration-UV techniques.

The proton dissociation constants of 3-hydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-on (maltol) and 8-hydroxyquinoline (oxine) ligands were determined by pH-potentiometry and UV spectrophotometry (Table 1). Complex formation between $\text{Ga}(\text{III})$ and maltol was followed mainly by pH-potentiometry in pure aqueous phase. Calculated stability constants ($\log\beta$; see Table 1.) are in good agreement with UV spectrophotometric results. In the pH range 2-11.5 the formation of $[\text{GaL}]^{2+}$, $[\text{GaL}_2]^+$ and $[\text{GaL}_3]$ complexes can be observed. It is noteworthy that in millimolar concentration range the tris-ligand complex predominates at physiological pH (95%).

The low aqueous solubility of the neutral $[\text{Ga}(\text{III})(\text{oxine})_3]$ complex hindered the application of pH-potentiometry for stability constant determination in water; therefore complexation was studied by pH-potentiometry in 30% and 60% (w/w) DMSO/ H_2O solvent mixtures. Additionally, the complex formation of the reference compound 8-hydroxyquinoline-5-sulfonate (sulfoxine) was studied under the same conditions and in water as well, due to its much better water solubility. The fluorogenic property of oxine allowed us to determine stability constants in pure aqueous phase in highly diluted solution, since coordination to $\text{Ga}(\text{III})$ enhances fluorescence intensity. These values are in a good agreement with the extrapolated values. In case of oxine we have found that at pH 7.4 $[\text{GaL}_3]$ (i.e. KP46) is the predominant form in aqueous solution.

The ability of the ligands to prevent the metal ion from hydrolysis depends on their $\text{Ga}(\text{III})$ binding ability. KP46 possess ca. 8 orders of magnitude higher stability constant than GaM; therefore it is able to preserve its original composition without appreciable dissociation at very low (but physiological relevant) concentrations (Figure 2). Accordingly, different biodistribution and ligand exchange processes are presumable.

Our research included also the investigation of the possible interactions with low and high molecular mass (LMM and HMM) components of blood serum. The most feasible LMM competitors like phosphate, oxalate and citrate are not able to displace coordinated oxine or maltol from its tris-complexes under physiological concentrations ($c_{\text{KP46}} = 20 \mu\text{M}$, $c_{\text{GaM}} = 80 \mu\text{M}$)

Since HSA is the main binding protein (630 μM) for many endogenous and exogenous substances in blood serum it is worth examining the binding ability of both complexes to this protein. Previous results denoted that interaction of HSA with maltol alone is not significant.¹¹ The same results were found in case of GaM using ¹H-NMR, ultrafiltration-UV and spectrofluorometric techniques. It is well known, that Tf is able to bind and transport $\text{Ga}(\text{III})$. ¹H-NMR measurements showed the appearance of the free maltol besides the bound ligand to $\text{Ga}(\text{III})$ in the presence of apoTf. Spectrofluorometric quenching study could confirm the presumed ligand exchange process (Figure 3.). Quenching experiment was achieved also with simple GaCl_3 salt, although no quenching effect was presented. The most probable reason is the formation of kinetically inert Ga-hydroxido complexes at physiological pH. Using thermodynamic stability constants model calculations were performed. Considering that GaM does not bind to HSA and 31% of Tf is saturated by $\text{Fe}(\text{III})$ in human blood, it was found that up to 30 μM complex concentration Ga is bound almost exclusively to Tf, at higher concentrations the free GaM complex is presented too and no hydroxido species appears.

Complex stability of KP46 is much higher compared to GaM; therefore ligand exchange processes expected to be less extended. This tendency can be observed by the quenching studies (Figure 3). The intense fluorescence of KP46 allowed us to follow the interaction with Tf at the excitation of 367 nm. In presence of Tf the measured intensities fall below the calibration points of KP46, that can be explained by the binding of $\text{Ga}(\text{III})$ to Tf while remaining oxine ligand is weakly fluorescent (Figure 4.). UV photometry and STD NMR results can confirm this phenomenon. Interaction with HSA was investigated by the same techniques. Binding of oxine alone was proved, however no quantitative data evaluation was possible. Fluorescence experiments followed via the emission of KP46 showed saturation like shape when KP46 concentration was kept constant. From this type of measurements a moderately strong conditional binding constant ($\log K' = 4.04$) could be calculated. Model calculations using physiological HSA and Tf concentrations show that binding of KP46 to HSA is an important issue in its biodistribution.

Our results show that $\text{Ga}(\text{III})$ forms $[\text{ML}_3]$ complexes with both ligands at physiological pH in the millimolar concentration range. In case of KP46 this tendency is retained in 10 μM concentration as well, however GaM complex is dissociated in 90%. We have found that low molecular mass serum compounds such as oxalate, phosphate or citrate cannot compete with the original ligands for the $\text{Ga}(\text{III})$ at pH 7.4. GaM complex shows no interaction with HSA, at the same time it can interact with Tf via ligand exchange processes. KP46 can interact with Tf in the same manner and can bind to HSA with moderate affinity. The later interaction should be taken into account considering the high amount of HSA in the blood serum. The possible transport by HSA suggests that Tf-independent $\text{Ga}(\text{III})$ uptake in cells can be a feasible alternative.

β -amiloid aggregációt gátló kelátor molekulák oldategyensúlya

SIJA Éva*

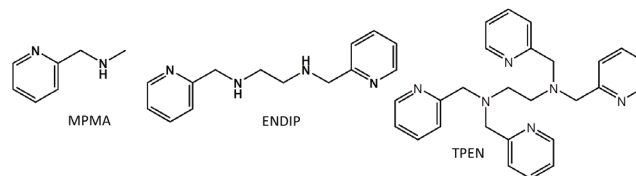
^aMTA-SZTE Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoport, Dóm tér 7, 6720 Szeged, Magyarország¹

1. Bevezetés

A XXI. században a várható élettartam meghosszabbodásával egyre nagyobb az esélye krónikus és „időskori” betegségek kialakulásának. Becslések szerint kb. 25 millió, főként hatvan év feletti ember szenved neurodegeneratív betegségekből. Kelet-Európában számukat 1,8 millió főre, hazánkban 150–160 ezer főre becsülik.^{1,2} Annak ellenére, hogy Alois Alzheimer 1907-ben, több mint 100 éve írta le először a kórt, kialakulásának okát és patofiziológiáját még ma sem ismerjük pontosan. Azonban abban egyetértés van, hogy az β -amiloid fehérjék aggregációja a hippocampusban és az agykéregben – akár kiváltó okként, akár végső következményként – kulcsszerepet játszik a betegség kórleletében. Az 1990-es évektől sorra jelentek meg az irodalomban olyan publikációk, melyek a fémionok szerepét hozták összefüggésbe az Alzheimer-kór kialakulásával.³⁻⁵ A β -amiloid fehérjék valóban képesek lehetnek fémionok (Al(III), Fe(III), Cu(II), Zn(II)) megkötésére. A Cu(II) és Zn(II)-ionok a fehérje hisztidin és tirozin oldalláncokkal képesek kialakítani koordinatív kötést, míg a hard jellegű Al(III) és Fe(III)-hoz az oxigén donoratomot tartalmazó aminosav oldalláncok koordinálódhatnak (aszparaginsav, glutaminsav, szerin, tirozin).^{6,7} A megkötődött fémionok képesek indukálni vagy gyorsítani a β -redő szerkezet kialakulását, így a β -amiloid kezdeti oligomerizációját, majd aggregációját. A képződött szupramolekuláris szerkezetek is képesek lehetnek fémionok megkötésére, sőt a megkötődött fémionoknak szerepe lehet különféle reaktív gyökök képződésében, toxikus folyamatok lejátszódásában. A betegség ma még nem gyógyítható, kezelése a tünetek enyhítésére, és a betegség kifejlődésének lassítására szorítkozik. Mivel a fémkelátorok lassítják az β -amiloid aggregációját, így merült fel a kelátterápia, mint lehetőség az Alzheimer-kór gyógyításában.^{8,9}

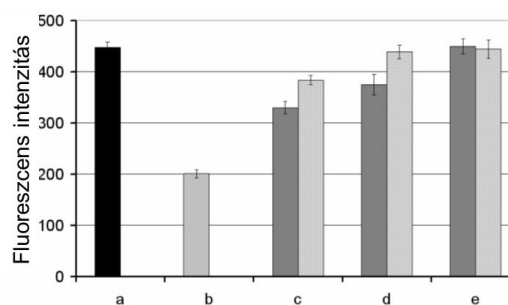
A Tanszékünkön már korábban is történtek kísérletek moderált cinkkötő képességgel rendelkező kelátor molekulák kifejlesztésére. Kezdetben Cu(II) és Zn(II) kelátor molekulák szintézisét és vizsgálatát tűztük ki célul.¹⁰ Az egyik molekula tulajdonképpen egy piridin-származék, a TPEN (*N,N,N',N'*-tetrakis-(2-piridil-metil)-etilén-diamin) molekula „megfelelésének” tekinthető (1. ábra).¹⁰ A TPEN-t a sejtben lévő összes cink fluoreszcens módszerrel való meghatározásában használják. Hatása mérgező. Azonban, ha a molekula méretét felére csökkentjük, csökken a fémkötő képessége is, a negyedakkora méretű MPMA pedig már jóval enyhébb fémkötő képességű ligandum.

A MPMA (*N*-metil-1-(piridin-2-il)-metánamin) Zn(II)- és Cu(II) kötőképesége gyenge, nem elég hatékonyan képes versengeni a β -amiloid fehérjékben kötött fémionokért. Az ENDIP (*N*,*N'*-bis-(piridin-2-il-metil)etán-1,2-diamin) ligandum azonban fiziológiás pH-n mindkét fémionnal elég nagy stabilitású 1:1 összetételű komplexet képez ahhoz,



1. Ábra. Cu(II) és Zn(II)-kötő MPMA és ENDIP és TPEN kelátorok.

hogy kivonja a fémionokat az amiloid komplexéből és így képes gátolni a fémion indukálta β -amiloid oligomerizációt. Hasonlóan ígéretes eredmények születtek hisztidin gazdag oligopeptidekkel is.¹¹ Ezekben a ligandumokban HisHis vagy GlyHis motívumok kapcsolódnak össze egymással egy lizin linker segítségével. A (HisHis)₂Lys és (GlyHis)₂Lys ligandumok is megfelelő erősséggel képesek kötni a fémionokat ahhoz, hogy eltávolítsák őket a β -amiloid komplexekből, azonban nem vonják el a fémionokat az esszenciális metalloproteinektől, így alkalmasak lehetnek arra, hogy megakadályozzák az amiloid aggregációs folyamatait. Ezt spektrofotometrián ellenőriztük.

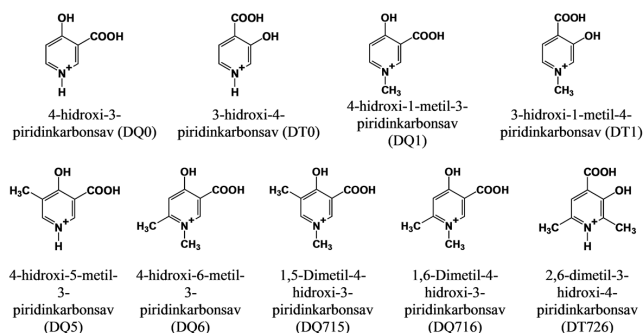


2. Ábra. A (1-40) β -amiloidban lévő Tyr(10) aminosav fluoreszcens emissziójának változása Cu(II) és kelátorok jelenlétében. (a) β -amiloid, (b) β -amiloid és ekvivaláris mennyiségű Cu(II), (c) β -amiloid, Cu(II) és fél ekvivalens kelátor, (d) β -amiloid, Cu(II) és egy ekvivalens kelátor, (e) β -amiloid és két ekvivalens kelátor (kelátor: (GlyHis)₂Lys – közép szürke és (HisHis)₂Lys – világosabb szürke oszlopok) $c_{\beta\text{-amiloid}} = 22 \mu\text{M}$.¹⁰

Azt tapasztaltuk, hogy a fémion hozzáadásának hatására az oligomerizációt mutató β -amiloid fluorimetriás emissziójának intenzitása csökken. Azonban, ha a kelátképző ligandum is jelen van a rendszerben, a β -amiloid fluoreszcenciája részben, vagy teljesen visszanyerhető – a fémion-kelátor komplex stabilitásától függően. A Cu(II)-ionnal nyert kísérleti eredményeinket a 2. ábra mutatja be.¹¹

Az újabb, jobb tulajdonsággal rendelkező kelátormolekulák felkutatása ma is aktuális feladat. A felhalmozódott, aggregálódást elősegítő fémionok eltávolítására alkalmas ligandumok lehetnek a különböző hidroxi-piridinkarbonsav származékok (3. ábra).

* Tel.: +36 62 343-579; e-mail: sija.eva@chem.u-szeged.hu



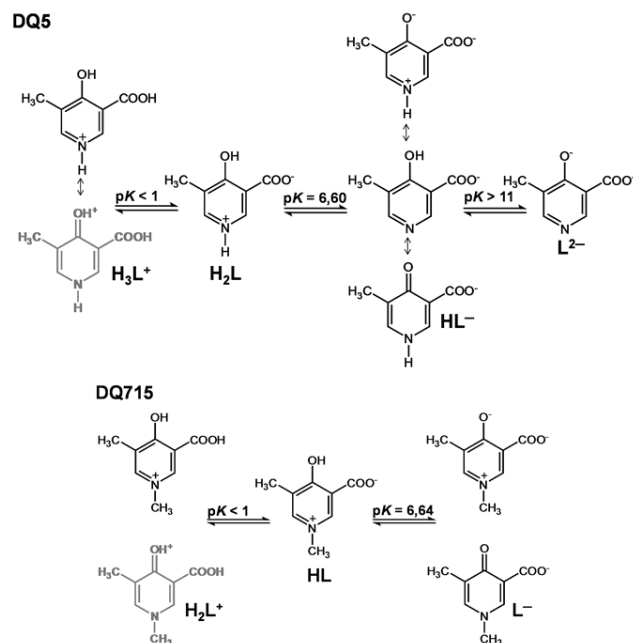
3. Ábra. A tanulmányozott hidroxi-piridinkarbonsav ligandumok szerkezeti képlete.

A piridingyűrűn egymással orto helyzetben lévő fenolos hidroxil- és karboxilcsoport egy hattagú, szalicilát típusú koordináció kialakítására képes. A gyűrűben lévő nitrogén azonban a szalicilsav komplexekhez képest stabilabb komplexek kialakítását teszi lehetővé. A karboxil- és hidroxilcsoportok bázicitása tovább növelhető, metil-szubsztituensek jelenlétével. Különleges jelentősége lehet a metilcsoport jelenlétének 1. pozícióban, azaz a piridin nitrogénen, melynek hatására az aromás gyűrűben lévő nitrogénen pozitív töltést eredményez, amely igen erős elektronszívó hatású a koordinálódni képes funkciókat tekintve.

Habár ezeket a ligandumokat elsősorban 'hard' fémionok (Fe(III), Al(III)) megkötésére tervezték¹², réz- és cinkion esetében elég, ha kisebb stabilitással kötők a fémiont, itt ugyanis a fő cél a megbomlott fémion-háztartás visszaállítása, és nem a fémfölösleg minimálisra csökkentése. Mivel feltehetően, a gyógyászati célra megfelelő és alkalmazásra kerülő ligandumok a véráramban szállítódhatnak, kölcsönhatásuk fontos lehet különböző vérben lévő molekulákkal, elsősorban az albuminnal. A ligandum humán szérum albuminnal (HSA) való kölcsönhatását UV-látható spektrofotometriás ultraszűrőssel, és spektrofluorimetriás mérésekkel vizsgáltuk. A biológiai vizsgálatok, illetve a ligandumok β -amiloid fehérjék oligomerizációs folyamataira tett hatásának vizsgálata jelenleg is folyamatban van laboratóriumunkban. Hidroxi-piridinkarbonsavak sav-bázis tulajdonságai

A piridin nitrogénen protonált ligandumok három deprotonálódási lépésen, míg az N-metil származékok két deprotonálódási lépésen mehetnek keresztül (4. ábra)

Az első proton disszociációs állandó ($pK_1 < 2$) mindkét ligandum esetében a karboxilcsoportokhoz rendelhető. Az N-metil szubsztituált származékban a gyűrűn lévő fenolos hidroxilcsoport savassága a fenolhoz és a szalicilsavhoz képest drasztikusan csökken, ami kinoidális mezomer szerkezet kialakulására vezethető vissza. A kinoidális és aromás L^- izomer formák jelenléte 1H NMR méréssel is igazolható. A piridin nitrogénen lévő metilcsoport hiányában a második és harmadik disszociációs állandó (pK_2 és pK_3) egyértelműen sem a hidroxil-, sem a piridin-N protonjához nem rendelhető. A HL^- formára három hipotetikus mezomer határszerkezet írható fel (4. ábra), melyek egyidejű létezését az oldatban szintén 1H NMR mérésekkel bizonyítottuk.¹³



4. Ábra. DQ5 és DQ715 ligandumok lehetséges proton disszociációs folyamatai.

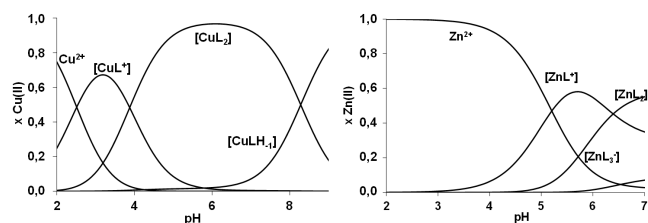
2. Hidroxi-piridinkarbonsavak komplexképző sajátosságai

Al(III)- és Fe(III)-ionok komplexképződési folyamatainak tanulmányozása hidroxi-piridinkarbonsav származékokkal a Padovai Egyetemen közös munka során történtek pH-potenciometriás és UV-látható spektrofotometriás mérések segítségével, melyeket 1H NMR (Al(III)-komplexek esetében), és ESI-MS mérésekkel egészítettünk ki.¹⁴ Mindkét fémion esetben az oldat pH-jától és a piridin nitrogén szubsztituáltságától függően különböző protonáltságú mono-, bisz- és triszkomplexek képződnek vizes oldatban. N-metil csoport jelenlétében a fémionhoz koordinálódott vízmolekulák deprotonálódhatnak, és vegyes hidroxidokomplexek képződnek. Nem szubsztituált piridin nitrogén jelenlétében a koordinálódott vízmolekula, és a NH^+ csoport is protont veszíthet a pH növekedésével. A ligandumok aszimmetriája folytán bisz- és triszkomplexek képződése esetén diasztereomerek képződésére van lehetőség, melyet Al(III)-komplexek esetében 1H NMR spektroszkópiával sikerült bizonyítani. A kialakult Fe(III)-komplexek stabilitása, a Fe(III) erősebb Lewis sav jellegének köszönhetően nagyobb, mint az Al(III)-komplexeké. Azonban a vizsgált DQ ligandumok közül csupán kettő volt az, amely a Fe(III)-ionokat képes volt fiziológiás pH-n is oldatban tartani, míg Al(III)-komplexek esetében a hidrolízis minden esetben csak pH 7,4 után kezdődött el.¹²

A komplexek stabilitása nagymértékben függ a gyűrűn lévő metilcsoport(ok) pozíciójától. 1. pozícióban lévő metilcsoportnak stabilitás növelő hatása van, amit további metil-szubsztituensek jelenléte tovább fokoz (DQ715 és DQ716 > DQ1). A 6. és különösképpen az 5. pozícióban lévő metilcsoport a $-NH^+$ származékok esetében növeli a ligandum affinitását a vas(III)-ionhoz (az előbbiekkal analóg módon DQ5 és DQ6 > DQ0). Ellentétes hatás figyelhető meg 2-metil származékok esetében. A DQ2 ligandum

Fe(III)-komplexe a legkisebb stabilitású, amelynek magyarázata lehet, hogy a 2. pozícióban lévő metilcsoport szterikusan gátolja, hogy a 3. helyen lévő nagyobb méretű karboxilcsoport a piridin gyűrűhöz képest ko-planárisan helyezkedjen el, ami akadályozza a kelátgyűrű kialakulását, így csökkenti a komplex stabilitását.¹²

A ligandumok 'hard' jellege folytán a 'borderline' fémionokkal kisebb stabilitású komplexet képeznek. Cu(II) és Zn(II)-ionokkal a komplexképződést elsősorban pH-potenciometriás mérésekkel vizsgáltuk, de néhány esetben vizsgálatainkat UV-látható és ¹H NMR vagy ESR mérésekkel egészítettük ki. A hidroxipiridinkarbonsavak Cu(II) és Zn(II)-ionnal való komplexképződése minden ligandum esetében hasonló speciációt mutat: kis stabilitású mono és biszkomplexek képződnek (5. ábra). Zn(II) tartalmú rendszerekben triszkomplex képződésére kis koncentrációban csak magasabb fémion-ligandum arány mellett van lehetőség.^{13,15}



5. Ábra. Cu(II)-DQ716 és Zn(II)-DQ716 rendszerek koncentrációeloszlási görbéi ($c_{\text{DQ716}} = 2 \times 10^{-3}$ M, $c_{\text{M(II)}} = 5 \times 10^{-4}$ M, $I = 0,2$ M KCl, $t = 25$ °C).

Megállapítottuk, hogy a vizsgált ligandumok közül a DQ716 az, amely a β -amiloid fehérjével nagyságrendben hasonló stabilitású komplexet képez Cu(II)-ionokkal, így akadályozhatja a β -amiloid fehérjék rézion-indukálta aggregációját. A cinkkomplexek stabilitása olyan kicsi, hogy a vizsgált ligandumok valószínűleg nem befolyásolják a szervezet cink-homeosztázisát.

3. Hidroxipiridinkarbonsavak kölcsönhatása HSA molekulával

Néhány ligandum humán szérum albuminnal (HSA) való kölcsönhatást spektrofotometriás és ultraszűrési-UV-látható spektrofotometriás módszerekkel vizsgáltuk. A DQ (4-hidroxi-3-piridinkarbonsav származék) ligandumokkal nem tudtunk kimutatni kölcsönhatást, csupán a DT726 molekula (3. ábra), amely 3-hidroxi-4-piridinkarbonsav származék volt képes a HSA-val kötést kialakítani. A mérések eredményei azt mutatják, hogy megfelelően nagy ligandum felesleg mellett a HSA molekula akár négy ligandum megkötésére is képes lehet. A különböző HSA-ligandum arányoknál a szűrletben lévő nem kötött ligandum koncentrációja alapján következtettünk a kötött ligandum mennyiségére, és ez alapján látszólagos stabilitási állandókat határoztunk meg (1. táblázat).¹⁵

4. Összefoglalás

A vizsgált hidroxipiridinkarbonsav molekulák oldategyensúlyi vizsgálatainak eredményei azt mutatják, hogy egyes ligandumok kelátterápiában való alkalmazása

1. Táblázat. HSA-ligandum (L = DT726) komplexek különböző módszerekkel meghatározott látszólagos stabilitási állandói (pH = 7,40; 0,10 M HEPES puffer; $t = 25$ °C).

Spektrofotometria	
(HSA)-L	5,79(1)
Ultraszűrési-UV-látható spektrofotometria	
(HSA)-L	4,83(9)
(HSA)-L ₂	9,1(3)
(HSA)-L ₃	13,1(1)
(HSA)-L ₄	16,1(6)

^a A zárójelben az állandókra számolt utolsó jegy bizonytalansága van feltüntetve.

eredményes lehet. A DQ716 erős komplexképző Fe(III), Al(III) és Cu(II)-ionokkal. Cu(II)-komplexeinek K_D értéke fiziológias pH-n ($K_D = 5,49$ nM) abba a tartományba esik, hogy hatékonyan versenghet a β -amiloid fehérjékben kötött rézionokért. A legtöbb vizsgált ligandum szintén erős komplexképző három vegyértékű fémionokkal, Zn(II)- és Cu(II)-ionokkal való vizsgálata azt mutatja a meghatározott K_D -érték alapján, hogy a ligandum feltehetően nem befolyásolja a szervezet sem réz- sem cinkháztartását. Így a vizsgálataink alapján ezek a ligandumok alkalmasak lehetnek arra, hogy szelektív alumínium kelátorként alkalmazzák őket. Azonban, bár egyes tanulmányozott ligandumok stabilis komplexet képeznek Fe(III)- és Al(III)-ionnal, azok stabilitása nem éri el a klinikumban használt kelátorok M(III)-komplexeinek stabilitását (pl. deferipron, deferrioxamin).¹⁶ A deferipron esetében pFe = 21, amitől a legerősebb komplexképző hidroxipiridinkarbonsav értéke is 1,7 lg egységgel elmarad (DT712: pFe = 19,3).¹⁶ Azaz a deferipronhoz hasonló hatás feltehetően csak nagyobb dózisú hidroxipiridinkarbonsav adagolása esetén érhető el. Előnyük azonban ezeknek a ligandumoknak, hogy toxicitásuk *in vitro* igazoltan nagyon alacsony. Hatékonyabb komplexképzők lehetnek a dihidroxipiridinkarbonsav származékok, melyekben a két hidroxilcsoport alkalmas helyzetben van pirokatechin-típusú koordinációra az adott fémionnal.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 Nemzeti Kiválóság Program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Hivatkozások

1. Ferri C.P.; Prince M.; Brayne C.; Brodaty H.; Fratiglioni L.; Ganguli M.; Hall K.; Hasegawa K.; Hendrie H.; Huang Y.; Jorm A.; Mathers C.; Menezes P.R.; Rimmer E.; Sczufca M.; *Alzheimer's Disease International. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study*, Lancet, (2005) 366. 2112.
2. Tariska P.; *Alzheimer-kór*, Golden Book Kiadó, Budapest, 2000.
3. Grasso G.; Giuffrida M.L.; Rizzarelli E.; *Metallomics*, 2012, 4, 937.

4. Viles, J.H.; *Coord. Chem. Rev.*, **2012**, 256, 2271.
5. Tiiman A.; Palumaa P.; Tõugu V.; *Neurochem. Int.*, **2013**, 62, 367.
6. Exley C.; *Coord. Chem. Rev.*, **2012**, 256, 2142.
7. Curtain C.C.; Ali F.; Volitakis I.; Cherny R.A.; Norton R.S.; Beyreuther K.; Barrow C.J.; Masters C.L.; Bush A.I.; Barnham K.J.; *J. Biol. Chem.*, **2001**, 276, 20466.
8. Huang X.D.; Atwood C.S.; Moir R.D.; Hartshorn M.A.; Vonsattel J.P.; Tanzi R.E.; Bush A.I.; *J. Biol. Chem.*, **1997**, 272, 26464.
9. Cherny R.A.; Legg J.T.; McLean C.A.; Fairlie D.P.; Huang X.; Atwood C.S.; Beyreuther K.; Tanzi R.E.; Masters C.L.; Bush A.I.; *J. Biol. Chem.*, **1999**, 274, 23223.
10. Lakatos, A.; Zsigó, É.; Hollender, D.; Nagy, N.V.; Fülöp, L.; Simon, D.; Bozsó, Zs.; Kiss T.; *Dalton Trans.*, **2010**, 39, 1302.
11. Lakatos, A.; Gyurcsik, B.; Nagy, N.V.; Csendes, Z.; Wéber, E.; Fülöp, L.; Kiss T.; *Dalton Trans.*, **2012**, 41, 1713.
12. Crisponi, G.; Dean, A.; Di Marco, V.; Lachowicz, J.I.; Remelli, M.; Tapparo A.; *Anal. Bioanal. Chem.*, **2013**, 405, 585.
13. Sija É.; Nagy N.V.; Gandin V.; Marzano C.; Jakusch T.; Dean A.; Di Marco V. B.; Kiss T.; *Polyhedron*, **2014**, 67, 481.
14. Dean, A.; Sija, É.; Zsigó, É.; Ferlin, M.G.; Marton, D.; Gandin, V.; Marzano, C.; Badocco, D.; Pastore, P.; Venzo, A.; Bertani, R.; Kiss, T.; Di Marco, V.; *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2013**, 1310.
15. Sija É.; Dean A.; Jakusch T.; Di Marco V. B.; Venzo A.; Kiss T.; *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, **2011**, 142, 399.
16. Clarke E.T.; Martell A.E.; *Inorg. Chim. Acta.*, **1992**, 191, 57.
17. Dean A.; Ferlin M.G.; Cvijovic M.; Djurdjevic P.; Dotto F.; Badocco D.; Pastore P.; Venzo A.; Di Marco V. B.; *Polyhedron*, **2014**, 67, 520.

Solution equilibrium of metal chelators as inhibitors of β -amyloid aggregation

For neurodegenerative disorders the metal ion dyshomeostasis is assumed to be involved in the development of the disease. Balanced homeostasis of metal ions is critical for the normal function of the brain and is maintained within strict limits. Disharmony in metal ion homeostasis, especially that of iron and It has been demonstrated that the increased brain Al(III), Fe(III), Cu(II) and also Zn(II) concentration in dyshomeostasis of these metal ions influences the oligomerisation of β -amyloids in the Alzheimer's brain. The interactions of these metal ions with amyloid precursor (APP) or amyloid β -peptide (A β) can produce neurotoxic H₂O₂. The metal ion dyshomeostasis can be corrected by using suitable chelators.

In previous work we synthesised chelator molecules for Cu(II) and Zn(II) (Fig 1.). One of the molecule is a pyridine-derivative, half of the molecule of TPEN used to measure cell Zn level (this molecule sequester Zn(II) practically completely and thus it is toxic), we halved the ligand to decrease its metal binding ability. The other molecules were peptide derivatives, when the strong metal ion chelator GlyHis and HisHis were linked together forming a tetrapeptide with a Lys linker and . Both ligands bind the metal ions in the needed stability range to extract them from the amyloids but not from the essential metalloproteins, so in theory they could prevent promoting of amyloid oligomerisation. This was checked by spectrofluorimetry. Namely, metal ions quenched the fluorescence of the amyloids. However, in the presence of the chelator molecules fluorescence of the amyloid could be partly or fully regained, depending on the stability of the metal-chelator complex. For Cu(II) the results are shown in Fig 2.

These chelators unfortunately are not optimal to remove Fe(III) or Al(III) from the brain as they are mostly N-donors and Fe(III) and Al(III) prefers O donor coordination. For hard metal ions removal we carried out measurements with various substituted hydroxy-pyridine-carboxylates. The ligands studied are depicted in Fig. 3.

The studied ligands which are cytotoxic up to 1 mM and with appropriate substituents may be able to remove the Fe(III), Al(III) and Cu(II) from β -amyloid aggregates without taking the essential metal ions from biomolecules and disturbing their normal functions.

Solution equilibria of the possible chelator compounds with Al(III) and Fe(III) were studied in the University of Padova. The interactions of the ligands with Cu(II), Zn(II) and human serum albumin (HSA) were investigated in Szeged.

The hydroxy-pyridine carboxylic acids form mono, bis and tris complexes with Al(III) and Fe(III). The stability of the complexes was not high enough to prevent the hydrolysis of Fe(III) in most cases, only four studied ligands (DT1, DT712, DQ716 and DQ715 were able to keep the Fe(III) dissolved in the physiological pH range. However, the Al(III) binding ability of these ligands is reasonable – all ligands can prevent the formation of Al(OH)₃ – but unfortunately not so efficiently as deferiprone or deferoxamine. The coordination strength is significantly increased when methyl substituents are present in positions 5 or 6 at the pyridine ring.

Due to the hard character of the donor atoms of these studied ligands the complex stability is lower with the borderline Zn(II) and Cu(II) ions than that of Fe(III) and Al(III). The stability constants of the formed Zn(II) and Cu(II) complexes were determined primarily by pH-potentiometry and some cases the results were confirmed by the combined approach of UV-Vis spectrophotometric and EPR or ¹H NMR spectroscopic measurements.

On basis of the overall stability constants, the K_D dissociation constants have been calculated for the complexes at pH 7.4. It has been found that among the studied ligands only the DQ716 can form sufficiently high stability complexes with Cu(II) and can retrieve the Cu(II) from the β -amyloid-aggregates and prevent the oligomerisation and aggregation processes. The order of magnitude of the K_D value of the Zn(II) complexes falls in the range of mmol/dm³, which means that Zn(II) binding ability of both ligands is very low. Therefore these ligands most probably do not affect the zinc homeostasis in vivo.

Interactions of some chosen ligands with human serum albumin (HSA) were studied by ultrafiltration/UV-Vis and fluorescence spectroscopy. DQ ligands do not exhibit a measurable tendency to interact with HSA. Only ligand DT726 – one of 3-hydroxy-4-pyridinecarboxylic derivatives is able to bind to the albumin. From our measurements, we could conclude that up to four DT726 molecules bind to HSA with high affinity at pH 7.40.

Titanát nanoszálak dielektromos folyamatainak azonosítása

HASPEL Henrik,^{a,*} KÓNYA Zoltán^{a,b} és KUKOVECZ Ákos^{a,c}

^aSzegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar, Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszék, Rerrich Béla tér 1, 6720 Szeged, Magyarország

^bMagyar Tudományos Akadémia, Reakciókinetikai és Felületkémiai Kutatócsoport, Rerrich Béla tér 1, 6720 Szeged, Magyarország

^cMagyar Tudományos Akadémia, "Lendület" Pórusos Nanokompozitok Kutatócsoport, Rerrich Béla tér 1, 6720 Szeged, Magyarország

1. Bevezetés

Egy adszorbens felületén megkötődő molekula az adszorbens fizikai-kémiai tulajdonságait gyökeresen megváltoztathatja. Ez különösen igaz az adott anyag dielektromos sajátosságaira, amelyek a töltésátviteli és relaxációs folyamatok felületi jellegénél fogva igen érzékenyen reagálnak az egyes adszorbátumok jelenlétére. Leggyakrabban a vízadszorpció hidrophil adszorbensekre gyakorolt hatásáról beszélhetünk, amelynek egyes tudományos mérések és technikai megoldások esetén döntő jelentősége lehet. Elég csak a szenzorokra, egyes heterogén katalitikus folyamatokra, a papíralapú elektronikai eszközökre, a hidrophil élelmiszer- és gyógyszeripari alapanyagokra vagy éppen a biomolekulákra (szénhidrátok, fehérjék, nukleinsavak, stb.) gondolnunk. Azt váránk, hogy egy közel másfél évszázada ismert, kiemelkedő tudományos és technikai jelentőséggel bíró jelenség részletes leírása tankönyvi anyagnak számít. Ám ez távolról sincs így! Az adszorbenseken lejátszódó dielektromos folyamatok ellentmondásmentes, mikroszkopikus mechanizmusát a mai napig sem sikerült feltárni.

A dielektromos relaxációs spektroszkópia (Dielectric Relaxation Spectroscopy, DRS) egy olyan, méltatlanul kevésbé ismert spektroszkópiai módszer, amely az anyagokban lejátszódó polarizációs és töltésátviteli folyamatokról szolgáltat információt. Az elektromágneses spektrum 1 μ Hz és 1 THz közötti tartományának vizsgálatával az elektromos dipólusok és mobilis töltéshordozók nemkvantált átmeneteibe nyerhetünk bepillantást.^{1,2} Az általunk is vizsgált szélessávú frekvenciatartományban (1 mHz-1 MHz) a mintát egy kondenzátor dielektrikumaként mérjük: A mintára adott frekvenciájú harmonikus gerjesztőfeszültséggel hatunk és az átfolyó áramból az Ohm-törvény segítségével számítjuk a rendszer komplex impedanciáját. Ebből a minta geometriájának ismeretében számítható a dielektromos tulajdonságok leírására leggyakrabban használt, frekvenciától, hőmérséklettől, nyomástól és anyagi minőségtől függő komplex permittivitás:²

$$\epsilon^*(\omega) = \epsilon'(\omega) - i\epsilon''(\omega), \quad (1)$$

ahol $\epsilon'(\omega)$ és $\epsilon''(\omega)$ a permittivitás valós és képzetes része, ω a mérési körfrekvencia. A valós vagy a képzetes rész, illetve maga a komplex függvény ugyanazt az információt hordozza, így elég csak az egyik ábrázolásban vett adatsort kiértékelni. A gyakorlatban ez legtöbbször a képzetes, ún. veszteségi spektrumot jelenti.² A függvény alakja a fellépő dielektromos folyamatok típusától függ. A nem nulla elektromos dipólmomentummal rendelkező molekulák/

molekularészletek orientációs polarizációja, illetve a mobilis töltéshordozók felhalmozódása a minta határfelületein veszteségi csúcsot hoz létre, amelynek maximuma szimmetrikus függvényalak esetén a relaxációs időnek megfelelő karakterisztikus frekvenciánál ($\omega = 1/\tau$) található. Az elektromos vezetés a csökkenő frekvenciával monoton emelkedő függvényértéket ad, így hatása az alacsony frekvenciák tartományában jelentős. A széles relatív páratartalom- (RH), és hőmérséklet-tartományon rögzített spektrumok vizsgálatával a hidrophil adszorbensekben vízadszorpció során lejátszódó dielektromos folyamatok részleteit tárhatjuk fel.

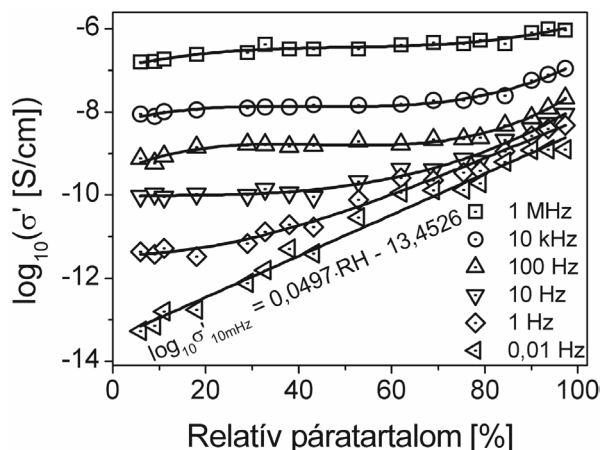
Munkánk célja a hidrophil adszorbensek dielektromos tulajdonságaiban vízadszorpció során bekövetkező változások vizsgálata volt. Ehhez egy egyéb tulajdonságait tekintve igen jól ismert modellrendszert választottunk. Az elmúlt bő egy évtizedben az SZTE Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszékén kiterjedt kutatások folynak egydimenziós titanát nanoszerkezetek előállítására, jellemzésére, és tulajdonságainak módosítására.^{3,4} A hidrotermálisan előállított, trititanát szerkezetű, hidrophil, ionos oxid nanoszálak ((Na,H)Ti₃O₇) kiváló rendszernek bizonyultak a fenti kérdéskör részletes vizsgálatára.

2. Eredmények és értékelésük

A kereskedelmi forgalomban kapható páratartalom szenzorok egyes típusaiban az elektromos tulajdonságok (vezetőképesség, kapacitás) változását mérik a relatív páratartalom megváltozása – gyakorlatilag, a vízadszorpciója-deszorpciója – során. A szenzoros szakirodalomban elterjedt módszer a minta vezetőképességét jellemző valamely fizikai mennyiség értékének néhány kiválasztott mérési frekvencián való meghatározása a páratartalom függvényében. Az 1. ábrán a titanát nanoszálakat tartalmazó mintatartó szobahőmérsékletű fajlagos vezetőképességének páratartalom-függése látható logaritmikus ábrázolásban, hat különböző frekvencián mérve.

Az eredmények nagyban hasonlítanak egy sor hidrophil adszorbens (pl., BaTiO₃,⁵ Li-dotált SBA-16⁶) esetén korábban publikált karakterisztikákhoz. Fontos hangsúlyozni, hogy az ábrázolt vezetőképesség nem pusztán a nanoszálakat jellemzi. Egy porminta az adszorbensből, az annak felületén megkötött és létrejött specieszekből, valamint a pórusokban található levegőből áll.⁷

* Tel.: 62/544-620; fax: 62/544-619; e-mail: haspel@chem.u-szeged.hu



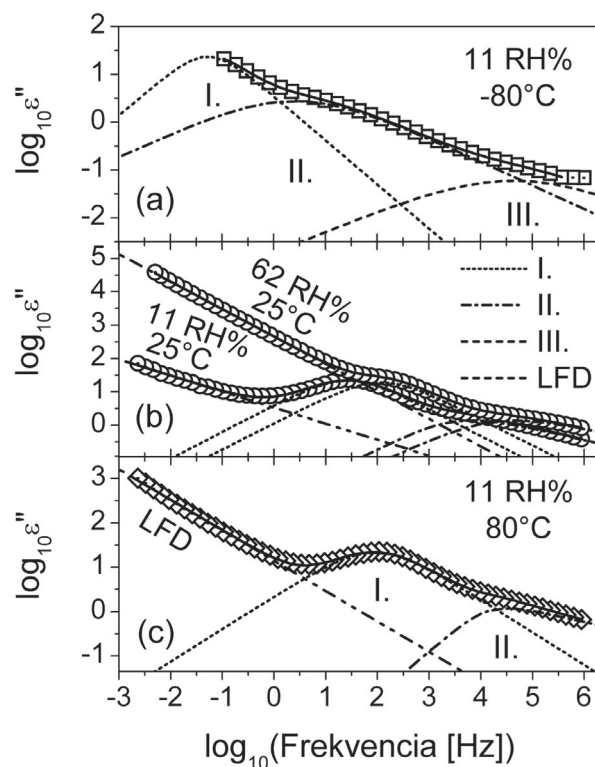
1. Ábra. A titanát nanoszálak vezetőképességének változása a relatív páratartalommal. 10 MHz mérési frekvencián exponenciális függést kapunk.

Látható, hogy a vezetőképesség páratartalom-függése a különböző mérési frekvenciákon egészen eltérő. A legalacsonyabb mérési frekvencián a vezetés ~4 nagyságrenden keresztül exponenciálisan nő a teljes páratartalom-tartományban. A vezetés nagy páratartalom-, és frekvenciafüggése a különböző időállandójú, azaz a különböző frekvenciatartományokhoz hozzájáruló, dielektromos folyamatoknak köszönhető. A kisfrekvenciás tartományban töltésvitelt és felhalmozódási, míg magasabb frekvenciákon (szobahőmérsékleten jellemzően a mikrohullámú tartományban) a dipólusmolekulák orientációs relaxációjára lehet számítani. A titanát nanoszálak esetén azt várhatjuk, hogy nagymértékű vezetésváltozáshoz tartozó töltéstranszportot, illetve a minta heterogén szerkezetéből adódó töltésszakkumulációhoz kapcsolódó folyamatokat találunk az általunk vizsgált < 1 MHz tartományon.

A kérdés tisztázásához szélessávú (1 MHz–10 MHz) dielektromos spektroszkópiás méréseket végeztünk a -100°C – +80°C hőmérséklet-, és 0 – 100% RH-tartományon.^{8,9} A jóval a tömbe víz fagyáspontja alatt (< ~ -20°C) történő mérések eredményére mint alacsony, míg a 0°C feletti mérések spektrumokra mint magas hőmérsékletű mérésekre hivatkozunk a szövegben. A tapasztalat szerint a kémiailag különböző, hidratált, hidrofíl adszorbensek hasonló dielektromos spektrumot szolgáltatnak. A szakirodalomban az 1950-es évektől találhatunk erre vonatkozó méréseket, és az elmúlt bő 60 évben egy sor oxid-hidroxid¹⁰ (főként szilika¹¹ és alumina¹²), agyagásvány,^{13,14} zeolit,¹⁵ homok,¹⁶ és biopolimer¹⁷ esetén vált nyilvánvalóvá a hasonlóság. A 2. ábrán a titanát nanoszálak dielektromos spektruma látható.

A képzetes spektrumokban magas hőmérsékleteken ($T > 0^\circ\text{C}$) legalább két veszteségi csúcs látható a közepes-magas frekvenciákon (I., II.), míg az alacsony hőmérsékleteken mért spektrumokban egy további nagyfrekvenciás relaxációs csúcsot (III.) találunk (a). A magasabb hőmérsékleteken csökkenő frekvenciával erősen növekvő dielektromos veszteséget tapasztalunk (b)-(c). Ez a kisfrekvenciás diszperzió (Low-frequency dispersion, LFD) jelensége. Felbukkanása az alacsony mobilitású töltéshordozókat nagy koncentrációban tartalmazó rendszerek esetén várható, például különböző hidratált hidrofíl anyagok (zeolit,¹⁵ homok,¹⁶ agyagásványok,¹⁸ stb.) esetében. Mivel

szigorúan véve nem egyezik meg az ideális egyenáramú (dc) vezetéssel, ezért kvázi-dc vezetésnek (quasi-dc conductivity) is nevezik.¹⁹ A páratartalom emelésével, azaz a vízádszorpció előrehaladtával a folyamatok relaxációs ideje csökken, a vezetés pedig nő: a veszteségi csúcsok a nagyobb frekvenciák felé tolódnak el, míg a kisfrekvenciás diszperzió értéke meredeken nő. A változó víztartalomnak tehát a hőmérsékletéhez hasonló hatása van. Ez az úgynevezett Time-Humidity Superposition Principle (THSP), amit az 1980-as évek közepe után először,²⁰ nemrégiben pedig 'újra felfedeztek'.²¹



2. Ábra. A titanát nanoszálak dielektromos veszteségi spektruma az egyes folyamatok (I., II., III., LFD) jelölésével -80°C (a), 25°C (b), és 80°C-on (c) 11% relatív páratartalom mellett mérve. A páratartalom spektrumra gyakorolt hatása is látható izotermális (25°C) körülmények között (c).

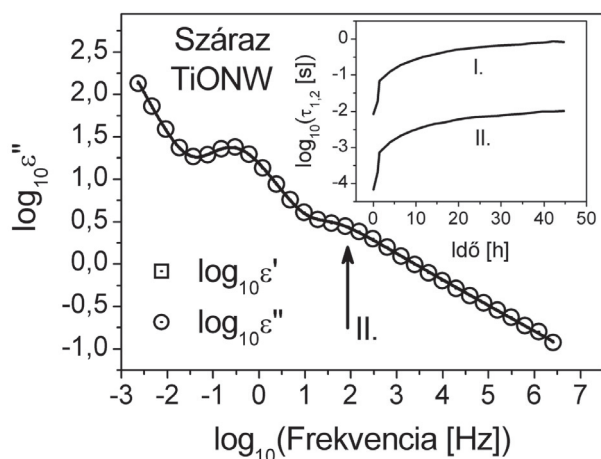
Mivel a dielektromos spektroszkópia nem abszolút mérési módszer, pusztán a spektrumok vizsgálatából nem határozható meg az egyes veszteségi folyamatok eredete. Minden esetben kiegészítő mérések szükségesek (pl. NMR, neutronszerzéses technikák, stb.), és az egyes relaxációs és vezetési folyamatok azonosítása csak a vizsgált anyag alapos ismerete mellett végezhető el. A vízádszorpció során mérhető spektrumok kialakításában szerepet játszó folyamatok sem ismertek pontosan, a szakirodalomban több különböző, egymásnak ellentmondó elmélettel találkozhatunk. Aközepes frekvenciákon megjelenő veszteségi csúcsok okaként leggyakrabban a felület hatására lelassult vízmolekulák dipoláris relaxációját^{8,10,11,14} vagy a minta határfelületein felhalmozódó mobilis töltéshordozókat (Maxwell-Wagner-Sillars process, MWS)^{9,12} azonosítják. Zeolitokban, a tipikusan 1 Hz - 1 MHz frekvenciatartományban megjelenő csúcsokat az üregekben található ionok diffúziós relaxációjával magyarázzák.¹³ Továbbá, a fentiekhez hasonló spektrumokat mértek alkáliföldfémekkel szennyezett alkálifém-halid mintákban is,²² melyeket az eltérő vegyértékű

szennyezőatomok beépülése során kialakuló hibahelyekhez kapcsolódó relaxációs folyamatok hoztak létre. Ionos adszorbensek esetén tehát mindig meg kell fontolni a hibahelyek által létrehozott veszteségi folyamatokat is.

A kvantitatív tárgyaláshoz a spektrumokat megfelelően felépített relaxációs függvénnyel kell megilleszteni. A 2. ábra alapján három Havriliak-Negami (HN) tagot (I.-III.), valamint egy, a kisfrekvenciás diszperziót leíró vezetési tagot vettünk figyelembe:²

$$\varepsilon^*(\omega) = \varepsilon_\infty + \sum_{i=1}^3 \frac{\Delta\varepsilon_i}{(1 + (i\omega\tau_i)^\alpha)^\beta} - ia \left(\frac{\sigma_{dc}}{\varepsilon_0 \omega^S} \right) \quad (2)$$

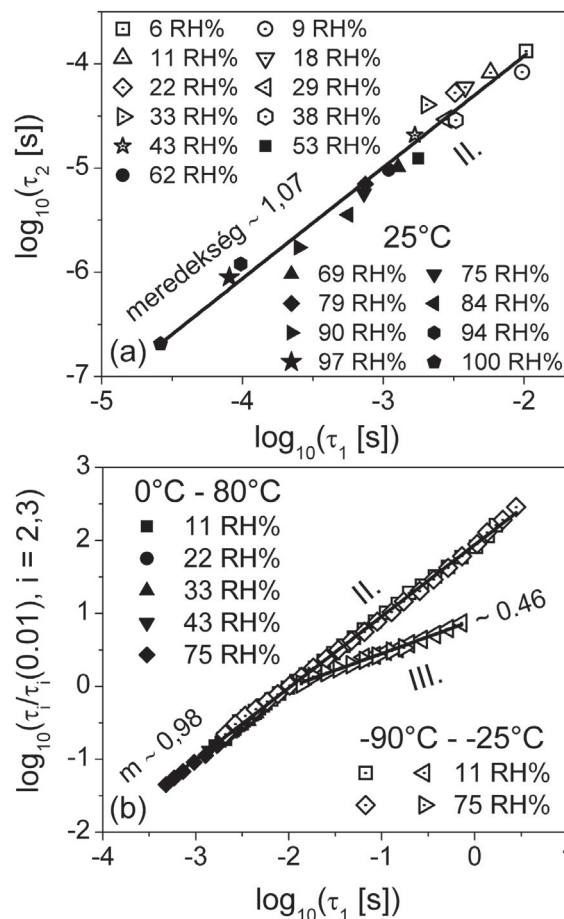
ahol $\Delta\varepsilon = \varepsilon_s - \varepsilon_\infty$ a relaxáció intenzitása (dielectric strength), τ a karakterisztikus idő, ε_s és ε_∞ a minta valós permittivitása kis-, és nagyfrekvenciás határesetben, i az imaginárius egység, $0 \leq \alpha \leq 1$ a szimmetrikus, míg $0 \leq \beta \leq 1$ az aszimmetrikus csúcskiszélesedést jellemző paraméter, S az LFD meredeksége kettős logaritmikus ábrázolásban, az a faktor dimenziója pedig (rad Hz)^S/(Hz). A Havriliak-Negami függvény a dielektromos spektroszkópia legelterjedtebben használt empirikus relaxációs függvénye, segítségével az anyagok széles körének dielektromos válasza leírható. A (2) modellfüggvény a titanát spektrumának kielégítő leírását adta minden páratartalom, és az összes vizsgált hőmérséklet esetén.



3. Ábra. A titanát nanoszálak dielektromos spektruma száraz atmoszférában 24 óra deszorpciós idő után (a). A beszűrt ábra az I. és II. folyamatok relaxációs ideje logaritmusának változását szemlélteti a deszorpció előrehaladtával.

A 100 Hz környékén feltűnő, tehát a magas hőmérséklet ellenére (25°C) is lassú, nagyintenzitású I. folyamat egy heterogén mintában (TiONW/TiONW, TiONW/víz, TiONW/levegő, víz/levegő határfelületek) minden bizonnyal határfelületi polarizáció eredménye. A nagyobb frekvenciáknál található II. veszteségi folyamat ugyanakkor eredhet az adszorbens felületének erőterében lelassult dinamikájú adszorbeált vízmolekulák orientációs relaxációjától, a minta határfelületein felhalmozódott töltésektől, vagy mobilis ionok diffúziós relaxációjából. A dipoláris eredet bizonyítékeként Y_2O_3 ,²³ Cr_2O_3 ,²⁴ és Nd_2O_3 ,²⁵ adszorbenseken a veszteségi csúcs teljes deszorpció esetén való eltűnését tekintették. A titanát nanoszálakkal ugyanakkor kísérletileg nehéz reprodukálni a 0 relatív borítottság állapotát: intenzív szárítás során a

nanoszál szerkezeti vizet veszít, szerkezete zsugorodik, majd összeesik.⁷ Alacsony hőmérsékletű vákuumkezelés ugyanakkor a kemiszorbeált és szerkezeti vizet nem távolítja el. Ezért a titanát nanoszálakat aktivált zeolittal szárítottuk, és a fiziszorbeált vízrétegek deszorpciója során rögzítettük a minta dielektromos spektrumát. A 3. ábra a 24 óra elteltével mért dielektromos spektrumot mutatja.



4. Ábra. A titanát nanoszálak veszteségi folyamatainak kapcsolata (II., III. – I.) különböző páratartalmakon 25°C-on (a), illetve széles hőmérséklet-tartományon mérve (b).

A II. folyamat nyílal jelöl veszteségi csúcsa egyértelműen kivehető, tehát a relaxáció – ellentétben a korábban publikált eredményekkel – nem tűnik el a legalacsonyabb víztartalmak esetén sem. A beszűrt ábrán az I. és II. folyamat relaxációs idejének változása látható a deszorpciós idő előrehaladtával, logaritmikus ábrázolásban. A relaxációk egyértelműen függenek a titanáton fiziszorbeálódott víztől, és a deszorpció egész időtartama alatt monoton lassulnak. A két folyamat relaxációs ideje párhuzamosan változik, ami a két relaxáció kapcsolatára utal. Az I. folyamat határfelületi jellege és a két folyamat hasonló viselkedése következtében a II. folyamat dipoláris eredetét ki lehet zárni. Úgy gondoljuk, utóbbi megjelenése határfelületi relaxációs folyamatokkal magyarázható. A III. veszteségi folyamat intenzitása több mint egy nagyságrenddel kisebb az I. és II. intenzitásánál és szobahőmérséklet környezetében a mikrohullámú tartományban mérhető. Hasonló relaxációt adszorbensek széles körében (pl. Nd_2O_3)²³ találtak az 1 MHz feletti frekvenciatartományban, melyet a felületen kötött vízmolekulák orientációs polarizációja hozott létre. Ezért a

titanát minták III. folyamata valószínűleg valamilyen poláris kémiai csoport vagy molekula dipoláris relaxációjának eredménye.

Az I. és II. folyamat, valamint a vezetés között korábban egyértelmű kapcsolatot találtunk,⁸ egymáshoz való viszonyukat azonban nem tárgyaltuk. A 4. ábrán a különböző páratartalmakon, 25°C-on mért II. folyamat relaxációs idejének változását szemlélteti az I. folyamat relaxációs idejének (a) függvényében, illetve a különböző páratartalmakon széles hőmérséklet-tartományban mért II. és III. folyamat relaxációs idejének változása látható az I. folyamat relaxációs idejével (b), kettős logaritmikus ábrázolásban. A II. veszteségi folyamat az I.-vel párhuzamosan változik, az $m \sim 1$ meredekség pedig azonos eredetet is sejtet. A III. folyamat jól kivehetően különbözik az előző kettőtől, ami megerősíti a spektrumok tárgyalásakor már feltételezett eltérő – valószínűleg – dipoláris eredetet. A II. és I. folyamat közötti erős korreláció, továbbá, mind a páratartalom, mind a hőmérséklet teljes vizsgált tartományában fenn áll. Ez a korábban említett THSP újabb bizonyítéka.

A szakirodalomban sajnos nem mindig kerül sor a spektrumokban fellelhető egyes dielektromos folyamatok egymással való korrelációjának vizsgálatára. A 4. ábra azonban jól mutatja, hogy az egyes veszteségi folyamatok tárgyalásakor különös óvatossággal kell eljárunk. Könnyen előfordulhat ugyanis, hogy ugyanazt a jelenséget szemléljük, csak más-más nézőpontból.

3. Összefoglalás

A szilárdtestek dielektromos tulajdonságai nagymértékben függenek a felületükön megkötődött, illetve kialakult kémiai spéciésektől. Bár a jelenség régóta ismert és nagy tudományos-technológiai jelentőséggel bír, a vezetési és relaxációs folyamatok mikroszkopikus mechanizmusa a mai napig nem áll rendelkezésünkre. A dielektromos spektroszkópia ezen folyamatok vizsgálatának egyik legfontosabb eszköze, azonban a spektrumok értelmezése sokszor nagy nehézségekbe ütközik. Munkánk során a titanát nanoszálakon vízadszorpció során bekövetkező dielektromos változásokat követtük. Széles páratartalom-, és hőmérséklet-tartományon rögzítettük a modellrendszer szélessávú dielektromos spektrumait, majd az irodalmi eredmények kritikus értelmezésével azonosítottuk a fellépő veszteségi folyamatokat. Egy újonnan bevezetett ábrázolásmóddal az azonosítás során elkövethető további hibára irányítottuk rá a figyelmet.

4. Kísérleti rész

A méréseket egy Novocontrol Alpha-A FRA-rendszerrel végeztük a 10^{-3} - 10^6 Hz frekvenciatartományban 50 mV (RMS) gerjesztő feszültség használatával. A nanoszálakat egy koaxiális hengerkondenzátorban mértük, ezzel kerülve el a pasztillák nyomásakor fellépő vezetés-változást. Az alacsony hőmérsékletű méréseket egy cseppfolyós nitrogénnel hűtött rendszerben végeztük, míg a $T > 0^\circ\text{C}$ spektrumokat egy Julabo F12 termosztát segítségével rögzítettük.

Köszönetnyilvánítás

A munka az Országos Tudományos Kutatási Alap (OTKA NK 106234), és az Európai Unió (TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047 és TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0060)) támogatásával készült.

Hivatkozások

- Hedvig, P. *Elektromos vezetés és polarizáció műanyagokban* Akadémiai Kiadó: Budapest, 1969.
- Kremer, F.; Schönhal, A. *Broadband Dielectric Spectroscopy* Springer Verlag: 2003.
- Kukovecz, Á.; Hodos, M.; Horváth, E.; Radnóczy, G.; Kónya, Z.; Kiricsi, I. *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 17781-17783.
- Horváth, E.; Kukovecz, Á.; Kónya, Z.; Kiricsi, I. *Chem. Mater.* **2007**, 19, 927-931.
- Wang, J.; Wang, X.-h.; Wang, X.-d. *Sens. Actuators B* **2005**, 108, 445-449.
- Tu, J.; Wang, R.; Geng, W.; Lai, X.; Zhang, T.; Li, N.; Yue, N.; Li, X. *Sens. Actuators B* **2009**, 136, 392-398.
- Haspel, H.; Laufer, N.; Bugris, V.; Ambrus, R.; Szabó-Révész, P.; Kukovecz, Á. *J. Phys. Chem. C* **2012**, 116, 18999-19009.
- Haspel, H.; Bugris, V.; Kukovecz, Á. *J. Phys. Chem. C* **2013**, 117, 16686-16697.
- Haspel, H.; Bugris, V.; Kukovecz, Á., *Langmuir* **2014**, 30, 1977-1984.
- Nelson, S. M.; Newman, A. C. D.; Tomlinson, T. E.; Sutton, L. E. *Trans. Faraday Soc.* **1959**, 55, 2186-2202.
- Nair, N. K.; Thorp, J. M. *Trans. Faraday Soc.* **1965**, 61, 975-989.
- Clement, G.; Knözinger, H.; Stählin, W.; Stübner, B. *J. Phys. Chem.* **1979**, 83, 1280-1285.
- Muir, J. *Trans. Faraday Soc.* **1954**, 50, 249-254.
- Goldsmith, B. J.; Muir, J. *Trans. Faraday Soc.* **1960**, 56, 1656-1661.
- Haidar, A. R.; Jonscher, A. K. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* **1986**, 82, 3535-3551.
- Anis, M. K.; Jonscher, A. K. *J. Mater. Sci.* **1993**, 28, 3626-3634.
- Tomaselli, V. P.; Shamos, M. H. *Biopolymers* **1973**, 12, 353-366.
- Bano, N.; Jonscher, A. K. *J. Mater. Sci.* **1992**, 27, 1672-1682.
- Jonscher, A. K. *Dielectric Relaxation in Solids* Chelsea Dielectrics Press: London, **1983**.
- Sasaki, N. *Biopolymers* **1984**, 23, 1725-1734.
- Cramer, C.; De, S.; Schönhoff, M. *Phys. Rev. Lett.* **2011**, 107, 028301.
- Dryden, J. S.; Meakins, R. J. *Discuss. Faraday Soc.* **1957**, 23, 39-49.
- Kuroda, Y.; Hamano, H.; Mori, T.; Yoshikawa, Y.; Nagao, M. *Langmuir* **2000**, 16, 6937-6947.
- Kuroda, Y.; Kittaka, S.; Takahara, S.; Yamaguchi, T.; Bellissent-Funel, M.-C. *J. Phys. Chem. B* **1999**, 103, 11064-11073.
- Hamano, H.; Kuroda, Y.; Yoshikawa, Y.; Nagao, M. *Langmuir* **2000**, 16, 6961-6967.

Identification of dielectric processes in titanate nanowires

The dielectric properties of a material depend strongly on the chemical species adsorbed or generated on its surface. Although various possible mechanisms have already been suggested in the past decades, many aspects of moisture-induced dielectric processes in hygroscopic solids are still unknown. Dielectric relaxation spectroscopy (DRS) is a powerful technique to characterize the variation of the dielectric properties of the material as a function of adsorbate content in both the frequency and temperature domains.

During measurements the complex dielectric constant of the system is recorded. Analysis of the real (storage spectrum) and/or the imaginary (loss spectrum) parts of these spectra, combined with detailed knowledge on the structure of the investigated sample helps in gaining deeper insight into the underlying mechanism.

Here we report our results on the water-induced dielectric phenomena in a nanostructured hydrophilic ionic oxide model system (titanate nanowires, TiONW) investigated via broadband dielectric spectroscopy in the -100°C – 80°C temperature and 0–100% relative humidity range. The samples were inserted into a concentric cylindrical capacitor and the complex impedance of the cell was recorded using a Novocontrol Alpha-A frequency response analyzer (FRA). In order to avoid density dependent conductivity variation, the sample was measured in powder form without pressing it into a pellet. The response analyzer applies a sinusoidal 50 mV(RMS) voltage with a frequency between 1 mHz and 1 MHz to the sample cell electrodes. The complex permittivity are then calculated from the raw impedance data. The relative humidity (RH) dependence of the dielectric properties was measured in a closed, grounded metal vessel containing saturated salt solutions, which maintained the desired RH levels between 6 and 100 RH%. The samples were allowed to equilibrate to constant electrical response. Low temperature measurements were carried out in a home-built liquid nitrogen cryostat setup during heating from -100°C to 25°C with an estimated error of $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$. The high temperature ($T > 0^{\circ}\text{C}$) spectra were recorded in a Julabo F12 thermostat with an error of $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$. TiONW served as a perfect model system to study. High level of understanding has already been obtained on the surface chemistry of such 1D titanate nanosystems, and the nanotubular or wire-like morphologies provide high specific surface area for adsorption and the related dielectric phenomena, i.e., charge carrier generation, ion migration and dielectric relaxation. The interpretation of dielectric spectra of the wet samples and the critical discussion of the origin of their constituent dielectric processes are presented in the light of a review of the available literature.

It was shown that variation of the logarithm of conductivity of the whole sample cell as a function of RH depends on the measuring frequency. Although it is a well-known phenomenon in sensor research, its origin is often misinterpreted. The strong frequency dependence is caused by different types of dielectric loss processes having different characteristic times (showing up in distinct frequency ranges). A straightforward next step is then the thorough analysis of the dielectric spectra. However, one should bear in mind during the identification of the processes, that the investigated samples consisted of nanowires, structural and adsorbed (physisorbed, chemisorbed, and/or dissociated moisture) water and air. It was, therefore, premised that interfaces have a great effect on the dielectric behavior of the material.

The dielectric spectra of wet titanate nanowires bear a great resemblance to the spectra published in the last 60 years for a wide range of adsorbent-adsorbate systems, e.g. various solid oxides-hydroxides (mainly silica and alumina), zeolites, clay minerals, sand/soil, glasses, and biopolymers. At near ambient conditions these spectra contain at least one dielectric loss in the middle frequency range with a sharp rise at low frequencies in both the storage and loss spectra.

Processes contributing to the damp TiONW dielectric spectra were identified and their origin was critically discussed. There are three relaxations in the medium- and high-frequency regime (denoted as I., II., and III.) and a further dispersive feature (low-frequency dispersion, LFD) towards low frequencies. Although the origin of a relaxation cannot be assigned unambiguously in DRS, it can be presumed from the dielectric strength, shape parameter and typical relaxation time regime of the investigated process. Such an assignment can only be validated by comparing it with results of independent methods, e.g., NMR or neutron scattering. Various and often contradictory assignments of the dielectric processes corresponding to I.-II. can be found in the literature. The origin of the loss peaks in the middle frequency range was suggested to be the dipolar relaxation of water molecules slowed down through interaction with the adsorbent surface, or by accumulation of charges at the interfaces of the heterogeneous sample. The latter is the so-called Maxwell-Wagner-Sillars (MWS) or interfacial relaxation process observed in many heterogeneous systems of very different nature. In the case of zeolites, the mid-frequency processes are thought to be caused by the relaxation of loosened ionic species.

We argue that the low-frequency feature (LFD) is caused by imperfect charge transport in the sample, while the two loss processes in the middle frequency range (I., II.) were suggested to have an interfacial origin. The high frequency loss (III.), however, has a dielectric strength of more than a magnitude lower than for I. and II. Moreover, its relaxation time seems to be closer to that of strongly bound water molecules showing up well above 1 MHz in dielectric measurements undertaken at around room temperature in Vycor glass, silica-alumina and montmorillonite gel suspensions, timber, humid oxides, zeolites, molecular sieves, alumina and silica particles. Therefore, it is concluded to originate from a real orientational relaxation process of a polar moiety of the surface.

Furthermore, an obvious interrelation between the loss process found in TiONW was proved on the basis of the strong correlation between their relaxation times. We suggest that applying such an analysis to the data already published in the literature could resolve some contradictions among the mechanisms proposed by various research groups.

A kiadvány a Magyar Tudományos Akadémia támogatásával készült

Főszerkesztő: Sohár Pál

Szerkesztő: Huszthy Péter

Technikai szerkesztő: Nagy Tibor Zsigmond

A szerkesztőség címe:

ELTE Általános és Szervetlen Kémiai Tanszék, 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/A

telefon: 372-2910; fax: 372-2909; e-mail: mkf@para.chem.elte.hu

URL: <http://www.mkf.mke.org.hu>

Kiadó:

Magyar Kémikusok Egyesülete, 1015 Budapest, Hattyú u. 16. II/8.; Felelős kiadó: Androsits Beáta

telefon: 201-6883; e-mail: androsits@mke.org.hu

URL: <http://www.mke.org.hu>

Internetes változat: <http://www.mkf.mke.org.hu>

Nyomda:

Press+Print Kft., Kiskunlacháza, Gábor Áron u. 2/a; telefon/fax: 24-433-433

Felelős vezető: Tóth Imre

Terjeszti a Magyar Kémikusok Egyesülete

Előfizetési díj egy évre MKE tagoknak 1400,- forint, közületeknek 5000,- forint.

Közleményeink kivonatosan is csak a lapunkra való hivatkozással vehetők át.

Egyes cikkek teljes egészben való átvételéhez a szerkesztőség külön engedélye szükséges.

A folyóiratot az MTMT indexeli, és a REAL archiválja.

Index: 25.540

HU ISSN 1418-9933

